

Opinnäytetyö (AMK)

Bioanalytiikka koulutusohjelma

NBIOAK14

2017

Ilona Uotila ja Laura Valli

# GROCOTT- JA ZIEHL- NEELSEN-VÄRJÄYKSIEN TESTAUS ARTISAN LINK - ERIKOISVÄRJÄYS- AUTOMAATILLA

Ilona Uotila ja Laura Valli

# GROCOTT- JA ZIEHL-NEELSEN-VÄRJÄYKSIEN TESTAUS ARTISAN LINK - ERIKOISVÄRJÄYSAUTOMAATILLA

Patologia on lääketieteen erikoisala, jossa tutkitaan solu- ja kudosisäntöjä. Värjäysmenetelmien avulla saadaan näkyviin solujen ja kudosten rakenteet, jotka tutkitaan mikroskooppisesti. Perusvärjäyksen lisäksi tehdään erikoisvärjäyksiä, joilla saadaan varmistettua tai täydennettyä diagnoosia. Tässä opinnäytetyössä käsitellään kahta erikoisvärjäystä. Värjäyksissä käytetään erilaisia terveydelle haitallisia tai vaarallisia kemikaaleja, joille altistumista tulisi välttää.

Opinnäytetyö tehtiin TYKS-SAPA-liikelaitoksen patologian palvelualueen laboratorioille. Tutkimuksen tarkoituksena oli testata, voidaanko sytologian laboratorioissa käsin tehtävä Grocott-värjäys ja histologian laboratorioissa käsin tehtävä Ziehl-Neelsen-värjäys siirtää Artisan Link -erikoisvärjäysautomaatille. Tavoitteena oli automaatioon siirtymisen myötä helpottaa työntekijöiden työtehtäviä ja parantaa työturvallisuutta vähentämällä työntekijöiden kontakteja käsivärjäyksissä käytettävien terveydelle vaarallisten tai haitallisten kemikaalien kanssa.

Tutkimus toteutettiin keväällä 2017 histologian laboratorioissa. Grocott-värjäyksen näytemateriaalina oli bronkoalveolaariset lavaationäytteet (BAL) ja Ziehl-Neelsen-värjäyksen näytemateriaali koostui keuhkokudosleikkeistä. Molempia värjäyksiä testattiin Artisan Link -erikoisvärjäysautomaatilla kolmella eri ohjelmalla, jotta löydettiin parhaat inkubaatioajat ja huuhtelujen lukumäärät. Automaattivärjäyksen laatua verrattiin lopuksi aikaisemmin tehtyihin käsivärjäyksiin.

Tutkimustulosten perusteella sytologinen Grocott-värjäys toimi Artisan Link -erikoisvärjäysautomaatilla ja se on tarkoituksena ottaa käyttöön käsivärjäyksen tilalle TYKS-SAPA-liikelaitoksen patologian palvelualueen laboratorioissa. Histologinen Ziehl-Neelsen-värjäys ei ollut tarpeeksi luotettava automaattimenetelmällä, eikä sitä vielä oteta käyttöön laboratorioissa.

## ASIASANAT:

sytologia, histologia, Grocott-värjäys, Ziehl-Neelsen-värjäys

Ilona Uotila and Laura Valli

## TESTING OF GROCOTT- AND ZIEHL-NEELSEN STAININGS WITH ARTISAN LINK SPECIAL STAINING SYSTEM

Pathology is a medical specialty that studies cell and tissue changes. Different staining methods are used to make the structure of cells and tissues visible and they are examined with a microscope. In addition to the most common staining methods there are special staining methods that are used to confirm and complete diagnosis. In this bachelor's thesis two special staining methods were tested. Some chemicals that are used in staining methods are harmful or dangerous for human health and exposure for these chemicals should be avoided.

This thesis was made for service division of pathology of public utility Tyks-Sapa. The purpose of this thesis was to test if it is possible to replace the cytological Grocott hand staining and histological Ziehl-Neelsen hand staining with Artisan Link special staining system. The aim of this thesis was to simplify the duties of the employees and to improve occupational safety by decreasing contacts with harmful or dangerous chemicals that are used in hand staining methods.

The staining methods of this thesis were carried out in the spring of 2017 in histology laboratory. The sample material of Grocott staining consisted of bronchoalveolar lavage samples (BAL) and the sample material of Ziehl-Neelsen staining was lung tissue. Both stainings were tested with Artisan Link special staining system with three different programmes so that the best incubation times and amount of rinses were found. Finally, the quality of the automatic stainings were compared with handmade stainings that were made earlier.

Based on the results of this thesis cytological Grocott staining was functional with Artisan Link special staining system and this method will be introduced in the laboratory instead of hand staining method. Histological Ziehl-Neelsen staining wasn't reliable enough with the automatic method and won't be introduced yet in the laboratory.

### KEYWORDS:

cytology, histology, Grocott staining, Ziehl-Neelsen staining

# SISÄLTÖ

<b>1 JOHDANTO</b>	<b>6</b>
<b>2 PATOLOGIAN ERIKOISVÄRJÄYKSIÄ</b>	<b>7</b>
2.1 Sytologia	7
2.1.1 Näytemateriaali ja diagnostiikka	7
2.1.2 Bronkoalveolaarinen lavaationäyte (BAL)	9
2.1.3 Yleisimmät värjäykset	9
2.2 Histologia	10
2.2.1 Näytemateriaali ja diagnostiikka	10
2.2.2 Kudosleike	12
2.2.3 Yleisimmät värjäykset	12
2.3 Grocott-värjäys	13
2.4 Ziehl-Neelsen-värjäys	14
2.5 Työturvallisuus	14
2.6 Artisan Link -erikoisvärjäysautomaatti	16
<b>3 OPINNÄYTETYÖN TARKOITUS, TAVOITE JA TUTKIMUSTEHTÄVÄT</b>	<b>18</b>
<b>4 OPINNÄYTETYÖN KÄYTÄNNÖN TOTEUTUS</b>	<b>19</b>
4.1 Grocott-värjäyksen käytännön toteutus	19
4.2 Ziehl-Neelsen-värjäyksen käytännön toteutus	21
4.3 Opinnäytetyön metodologiset lähtökohdat	23
4.4 Opinnäytetyön eettisten näkökohtien tarkastelu	23
<b>5 TUTKIMUSTULOKSET JA NIIDEN TARKASTELU</b>	<b>25</b>
5.1 Grocott-värjäys	25
5.2 Ziehl-Neelsen-värjäys	30
<b>6 POHDINTA</b>	<b>33</b>
<b>LÄHTEET</b>	<b>35</b>

## LIITTEET

- Liite 1. Rekisteritutkimuksen/laatuhankeen lupahakemus
- Liite 2. Grocott-värjäyksen 1. ohjelma
- Liite 3. Grocott-värjäyksen 2. ohjelma
- Liite 4. Grocott-värjäyksen 3. ohjelma
- Liite 5. Ziehl-Neelsen-värjäyksen 1. ohjelma
- Liite 6. Ziehl-Neelsen-värjäyksen 2. ohjelma
- Liite 7. Ziehl-Neelsen-värjäyksen 3. ohjelma

## KUVAT

Kuva 1. Artisan Link -erikoisvärjäysautomaatti (Agilent 2017a).	17
Kuva 2. Grocott-käsivärjäys, näyte 1.	25
Kuva 3. Grocott-värjäys automaatilla, näyte 1, ohjelma 1.	26
Kuva 4. Grocott-värjäys automaatilla, näyte 3, ohjelma 1.	26
Kuva 5. Grocott-värjäys automaatilla, näyte 4, ohjelma 1.	26
Kuva 6. Grocott-värjäys automaatilla, näyte 5, ohjelma 1.	27
Kuva 7. Grocott-värjäys automaatilla, näyte 1, ohjelma 2.	27
Kuva 8. Grocott-värjäys automaatilla, näyte 2, ohjelma 2.	28
Kuva 9. Grocott-värjäys automaatilla, näyte 1, ohjelma 3.	28
Kuva 10. Grocott-värjäys automaatilla, näyte 3, ohjelma 3.	29
Kuva 11. Grocott-värjäys automaatilla, näyte 6, ohjelma 3.	29
Kuva 12. Grocott-värjäys automaatilla, näyte 7, ohjelma 3.	29
Kuva 13. Ziehl-Neelsen-käsivärjäyksen vertailu automaattimenetelmään, näyte 3.	30
Kuva 14. Ziehl-Neelsen-värjäys automaatilla, näyte 1, ohjelma 1.	30
Kuva 15. Ziehl-Neelsen-värjäys automaatilla, näyte 6, ohjelma 1.	31
Kuva 16. Ziehl-Neelsen-värjäys automaatilla, näyte 1, ohjelma 2.	31
Kuva 17. Ziehl-Neelsen-värjäys automaatilla, näyte 1, ohjelma 3.	32
Kuva 18. Ziehl-Neelsen-värjäys automaatilla, näyte 6, ohjelma 3.	32

## TAULUKOT

Taulukko 1. Grocott-värjäyksen näytteet.	20
Taulukko 2. Grocott-värjäyksen ohjelmien inkubaatioajat.	20
Taulukko 3. Ziehl-Neelsen-värjäyksen näytteet.	21
Taulukko 4. Ziehl-Neelsen-värjäyksen ohjelmien inkubaatioajat ja huuhtelujen lukumäärät.	22

# 1 JOHDANTO

Patologia on lääketieteen erikoisala, jossa kuvataan ja tunnistetaan sairauksia ja selvitetään niiden syitä. Tämä perustuu solu- ja kudostuutosten tutkimiseen. Erilaisten värjäysmenetelmien avulla saadaan näkyviin solujen ja kudosten rakenteet, jotka tutkitaan mikroskooppisesti. (Karttunen ym. 2005.) Solunäytteet värjätään Papanicolaoun menetelmällä (Klemi & Stenbäck 2012a) ja kudostuutokset värjätään yleisimmin hematoksyliini-eosiini (HE) menetelmällä. Lisäksi voidaan tehdä erikoisvärjäyksiä, joilla saadaan varmistettua tai täydennettyä diagnoosia. (Mäkinen 2012a.) Tässä opinnäytetyössä testataan Grocott- ja Ziehl Neelsen-erikoisvärjäykset Artisan Link -erikoisvärjäysautomaatilla.

Värjäyksissä käytetään erilaisia kemikaaleja, joista lähes kaikki ovat haitallisia terveydelle (Kirjavainen 2013). Työturvallisuuden takaamiseksi kemikaaleille altistumista tulisi välttää (Työturvallisuuslaki 738/2002; Kemikaalilaki 599/2013). Grocott-käsivärjäyksessä käytetään haitalliseksi luokiteltuja kemikaaleja, kuten kromihappoa, hopeanitraattia ja natriummetabisulfiittia, joista kromihappo aiheuttaa syöpää hengitettynä (Hirsimäki 1999a). Ziehl-Neelsen-käsivärjäyksessä käytetään myrkyllistä fenolia ja haitallista light green-väriliuosta, jonka epäillään aiheuttavan syöpää (Hirsimäki 1995). Värjäysautomaatin etuja ovat työturvallisuus, tasalaatuisuus ja työtehtävien helpottaminen (Kirjavainen 2013).

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena on testata, voidaanko käsivärjäykset Grocott ja Ziehl-Neelsen siirtää Artisan Link -erikoisvärjäysautomaatille. Tutkimus tehdään TYKS-SAPA-liikelaitoksen patologian palvelualueen laboratoriolle. Tämän opinnäytetyön tavoitteena on automaatioon siirtyminen, koska se parantaa työturvallisuutta ja tasalaatuisuutta, vähentää inhimillisiä virheitä ja helpottaa työntekijöiden työtehtäviä.

## 2 PATOLOGIAN ERIKOISVÄRJÄYKSIÄ

Patologia eli tautioppi muodostaa lääketieteen perustan, koska sitä käytetään taudinmäärityksessä, tautien hoidossa, seurannassa ja ehkäisyssä. Patologian tarkoituksena on kuvata ja tunnistaa tautien syitä eli etiologisia tekijöitä ja selvittää miten taudit syntyvät. Tämä perustuu solujen ja kudosten makroskooppiseen ja mikroskooppiseen tutkimiseen. (Karttunen 2005.) Solujen ja kudosten rakenteet saadaan näkyviin erilaisten värjäysmenetelmien avulla (Karttunen & Vuopala 2005). Patologian alueisiin kuuluu solu- ja kudospatti sekä ruumiinavauspatologia (Karttunen 2005).

### 2.1 Sytologia

Sytologia eli soluoppi on solujen ja niiden rakenneosien tutkimista, joka tuli mahdolliseksi mikroskoopin keksimisen myötä 1600-luvulla (Koivuniemi & Stenbäck 1994). Mikroskooppinen tautidiagnostiikka alkoi kehittyä kuitenkin vasta 1800-luvulla. Vuonna 1917 George Nicolas Papanicolaou ja hänen työtoverinsa aloittivat tutkimus- ja julkaisutoiminnan, jonka myötä sytologian diagnostiikka sai perustan ja laajemman kliinisen merkityksen. (Klemi & Stenbäck 2012b.) Sytologiasta tuli osa patologian diagnostiikkaa varsinaisesti 1960-luvulla (Kholová 2015).

#### 2.1.1 Näytemateriaali ja diagnostiikka

Sytologian diagnostiset menetelmät ovat nopeita, yksinkertaisia ja taloudellisia (Koivuniemi & Stenbäck 1994; Klemi & Stenbäck 2012b). Sytologisia tutkimuksia käytetään epäiltäessä kasvainta, varhaisdiagnostiikassa, sekä potilaan hoidon seurannassa eri hoitomenetelmien vaikutusta arvioitaessa. Sytologinen tutkimus on hyödyllinen myös, jos koepalaa on vaikeaa tai mahdotonta ottaa komplikaatioiden vaaran tai teknisten syiden takia. Sytologisten tutkimuksen virheitä voivat olla epävarmat tulkinnot, väärät negatiiviset ja väärät positiiviset löydökset, jotka johtuvat tulkintavirheistä tai -vaikeuksista. Diagnostiikan onnistumiseen vaikuttavat näytteenotto, näytteen valmistus, sekä sytologin ja esitarkastajan pätevyys. Sytologisten tutkimusten hyöty on silti osoittautunut huomattavaksi kliinisessä mikroskooppisessa diagnostiikassa. (Koivuniemi & Stenbäck 1994.)

Kehon kaikkia pintoja peittää kalvo, joka muodostuu pintasoluista. Ne kuluvat ja uusiutuvat fysiologisesti jatkuvasti. Sytologisessa diagnostiikassa käytetään kullekin elimelle tyypillisiä soluja, jotka irtoavat eritteisiin itsestään tai joita irrotetaan mekaanisesti kalvon pinnalta. Pintasolut jaetaan muun muassa levy-, lieriö- ja kuutioepiteeliin, sekä välimuotoiseen epiteeliin, mesoteeliin ja endoteeliin. (Koivuniemi & Stenbäck 1994.) Soluja irtoaa enemmän kasvaimista ja tulehtuneilta pinnoilta kuin terveiltä pinnoilta, josta on hyötyä diagnosoinnissa (Karttunen & Vuopala 2005).

Sytologisia näytteitä voidaan ottaa monella eri tapaa. Irtoisolunäytteitä otetaan esimerkiksi kohdunkaulasta, emättimestä, kohdun kaulaosasta, suuontelosta, ysköksistä ja virtsoista. Imunäytteitä saadaan hengitysteiden ja ruuansulatuskanavan limakalvoilta tähystyksen eli endoskopian avulla. Huuhtelunäytteitä otetaan esimerkiksi ruuansulatuskanavasta, keuhkoputkista ja virtsateistä. Huuhtelu voidaan tehdä pelkällä letkulla tai tähystyksessä, jonka hyöty on suunnata huuhtelu suoraan epäiltyyn kohteeseen. Kaapimisnäytteitä ja harjairtosolunäytteitä otetaan yleensä ruuansulatuskanavasta, suuontelosta, kurkunpäästä, keuhkoputkista ja kohdun kaulaosasta. Punktionäytteitä otetaan sisäelimiä ympäröivistä onteloista, esimerkiksi perikardium-, abdominaali-, pleura- ja nivelonteloista, sekä myös patologisista onteloista kuten kystoista. Punktionäytteiden ottamiseen käytetään neulaa tai ruiskua. Ohutneulabiopsiassa ohuella neulalla tai ruiskulla imetään solumateriaalia ja kudoksen kappaleita elimen tai kudoksen epäilyttävästä muutoksesta. (Koivuniemi & Stenbäck 1994; Klemi & Stenbäck 2012c.)

Sytologian maligniteettidiagnoosi perustuu solumuutoksiin, joista tärkeimpiä ovat tumamuutokset. Tumamuutoksia ovat esimerkiksi tumakoon vaihtelu, monitumaisuus ja kromatiinin rakenteen muutokset. Muutoksia voi ilmetä myös sytoplasmassa sen muodon ja määrän vaihteluna. Lisäksi muutoksia voi esiintyä tuman ja sytoplaskan suhteessa, solun kypsymisessä eli differentiaatiossa ja solujen välisessä koheesiossa. (Koivuniemi & Stenbäck 1994.) Suomessa solunäytteiden vastaanamiseen käytetään yleensä Papa-luokitusta (0-5) tai Bethesda järjestelmää. Jos luokka on korkea, tehdään myös löydöstä selventävä lausunto. Edustava näyte ja hyvät esitiedot ovat tärkeitä lopputuloksen kannalta. (Klemi & Stenbäck 2012d; Klemi & Stenbäck 2012e.)



### 2.1.2 Bronkoalveolaarinen lavaationäyte (BAL)

Bronkoalveolaarinen lavaationäyte (BAL) otetaan keuhkohuuhtelumenetelmällä, jolla saadaan alemmista hengitysteistä solunäytteitä ja eritteitä, kuten proteiineja ja mikrobeja. Menetelmän etuina ovat helppous, alhainen komplikaatioiden riski, sekä useat eri analysointimahdollisuudet. (Taskinen 1994.) Onnistuneella BAL-näytteellä voidaan usein välttää keuhkobiopsia. Tavallisimpia tutkimusindikaatioita ovat keuhkosairaudet, kuten keuhkosarkoidoosi, keuhkofibroosi ja erilaiset alveoliitit, sekä infektioiden aiheuttajat kuten *Pneumocystis jirovecii*, sienet ja sytomegalovirus. BAL-näytteestä voidaan myös laskea asbestikappaleiden määrä keuhkoissa. (Hirsimäki 1999b.) Tässä opinnäytetyössä yhtenä näytemateriaalina käytetään BAL-näytteitä.

Huuhtelu tehdään polikliinisesti tähystyksen yhteydessä ja hengitystiet puudutetaan paikallisesti. Potilaan keuhkokudokseen ruiskutetaan 10x20 ml keittosuolaliuosta, joka imeetään takaisin jokaisen ruiskutuksen jälkeen. Lopulliseksi näytemääräksi saadaan yleensä 100-150 ml ja se lähetetään laboratorioon. (Taskinen 1994.) TYKS-SAPA-liikelaitoksen patologian palvelualueen sytologian laboratoriossa fiksoimaton näyte käsitellään kahden tunnin sisällä näytteenotosta. Osa BAL-näytteestä fiksoidaan absoluutisella etanolilla ja siitä tehdään Cyto-Tek-solusentrifugivalmisteet Papanicolaun (Papa) värjäystä ja rautavärjäystä varten. Jäljelle jäänyt näyte suodatetaan sideharson läpi ja esitarkastaja laskee siitä kokonaissolumäärän. Kokonaissolumäärän avulla valitaan oikea näytemäärä erikoisvärjäyksien valmistukseen. Erikoisvärjäyksistä tehdään aina May-Grünwald-Giemsa (MGG) ja pyydettyessä Grocott ja Oil Red O (ORO) ja ne valmistetaan solusentrifuginäytteistä. Lisäksi niistä voidaan tehdä immunohistokemiallisia värjäyksiä. (Hirsimäki 1999b.)

### 2.1.3 Yleisimmät värjäykset

Sytologisten näytteiden fiksaatio riippuu näytetyypistä ja ottamistavasta (Aho 2000). Papa-näyte fiksoidaan välittömästi 95 % alkoholilla (Kauraniemi & Vuopala 1994) tai suihkemuotoisella isopropyylialkoholilla ja polyetyleeniglykolilla. Muut solunäytteet fiksoidaan 50-70 % etanolilla, jonka etuna on nopea fiksaatio ja näytteen hyvä säilyvyys. Jotkut näytteet ilmakuivataan myöhempää värjäystä varten. Yleisimmät sytologiset värjäykset ovat Papanicolaou (Papa) ja May-Grünwald-Giemsa (MGG). (Aho 2000.) Papa-värjäystä käytetään syöpädiagnostiikassa, gynekologisissa sivelyvalmisteissa ja sillä

voidaan saada tietoa myös infektioista. Menetelmän näytemateriaaleina ovat etanolilla kiinnitetyt sively-, solusentrifugi- ja suodatinvalmisteet. Niiden värjäämisessä käytetään tumavärinä hematoksyliiniä ja sytoplasmaväreinä ovat EA-50 (eosiiniatsuuri) ja OG-6 (orange-G-6-fosfovolframihappo). (Hirsimäki 1997.) MGG-värjäys soveltuu kasvaindiagnoosiin, tulehdussolujen tyypitykseen, sekä luuydin- ja imukudosdiagnoosiin. Menetelmässä käytetään ilmakeivattuja sivelyjä, sekä Cytospin-solusentrifuugivalmisteita. Niiden värjääminen koostuu kahden eri menetelmän yhdistelmästä ja väreinä ovat hapan eosini, emäksinen metyleenisini ja atsuuriväri. (Hirsimäki 2004.)

## 2.2 Histologia

Histologia eli kudospäi on kudosten rakenteen ja toiminnan tutkimista valomikroskooppilla. Histologian tutkiminen syntyi 1800- ja 1900-lukujen vaihteessa, kun valomikroskoopit alkoivat kehittyä ja tekniikat ohuiden leikkeiden valmistamiseen syntyivät. Laboratoriovälineistöt ovat kehittyneet viimeisten 20 vuoden aikana paljon. Perusmenetelmät ovat kuitenkin pysyneet samoina. (Stevens & Lowe 2005; Mäkinen 2012b.)

### 2.2.1 Näytemateriaali ja diagnostiikka

Histologisia tutkimuksia käytetään hyvänlaatuisten kasvainten, rappeumasairauksien, infektioiden, aineenvaihdunnan tautien ja muiden tulehdustautien toteamiseen ja luokiteluun, sekä syöpädiagnoosissa. Kudospäytteet voivat olla hyvin erikokoisia, muutamasta millimetristä kymmeneen senttimetriin. Näytteen kokoon vaikuttaa muutoksen koko ja poistetun terveen kudoksen määrä. (Karttunen & Vuopala 2005.) Diagnostiikan onnistumiseen vaikuttavat näytteenotto, näytteen valmistaminen laboratoriossa ja patologin pätevyys. Näytteenotossa on erityisen tärkeää saada edustava näyte ja kirjata esitiedot tarkkaan ylös. Lähetetystä materiaalista otetaan tutkimukseen yleensä vain pieni osa mukaan, joten lähetävän lääkärin on merkittävä selkeästi, mitä osaa halutaan tutkia. (Mäkinen 2012b.)

Vierekkäin asettuneet solut ja soluväliaine muodostavat kudoksia ja erilaiset kudokset muodostavat yhdessä suurempia toiminnallisia yksiköitä eli elimiä. Elimet voivat koostua monista eri kudostyypeistä ja niiden päätyypit ovat epiteeli-, tuki-, hermo- ja lihaskudos. Epiteelikudosta on muun muassa iholla, limakalvoilla ja elimistön vapailla pinnoilla. Sen

tehtävänä on esimerkiksi suojella kudoksia, ottaa vastaan aistiärsykyitä ja erittää erilaisia aineita. Epiteeli luokitellaan sen rakenteen ja toiminnan mukaan muun muassa levy-, kuutio- ja lieriöepiteeliksi. Tukikudokseen kuuluu side-, rasva-, luu- ja rustokudos. Niiden tehtävänä on kiinnittää ja tukea elimistön rakenteita. Hermokudos muodostuu varsinaisista hermosoluista ja gliasoluista eli hermotukisoluista. Hermokudos välittää tietoa, joka tapahtuu sähköimpulssina hermosolusta toiseen synapsien ja välittäjäaineiden avulla. Lihaskudos tuottaa supistumisen avulla liikettä ja lihaskudosta on kolmea eri lajia: poikkijuovainen-, sileä- ja sydänlihaskudos. (Arstila ym. 2006.)

Histologisia kudoksenäytteitä voidaan ottaa eri tavoin. Biopsioita eli näytepaloja otetaan muutosalueelta ja joskus myös alueelta, joka näyttää normaalilta. Näytteet voivat olla esimerkiksi ruokatorvi-, paksusuoli- tai maksabiopsioita, sekä erityisosaamista vaativia aivo-, lihas- ja hermobiopsioita. Biopsioilla pyritään luokittelemaan muutos ennen suuria operatiivisia leikkauksia. (Karttunen & Vuopala 2005.) Suuret operatiiviset näytteet ovat elinten osia, kokonaisia elimiä tai elinryhmiä, jotka ovat poistettu kasvainten tai muiden sairauksien takia. Pienet operatiiviset näytteet ovat paikallispuudutuksessa poistettuja muutoksia, kuten luomia tai suurempia ihomuutoksia. (Mäkinen 2012b.) Näytteitä otetaan myös kaapimalla esimerkiksi kohdunkaulasta ja kohdun limakalvolta (Karttunen & Vuopala 2005). Histologisia näytteitä ovat myös jääleikkeet, joita tehdään, kun tarvitaan nopeaa diagnoosia kirurgisen operaation aikana. Näytteen diagnoosi voi vaikuttaa operaation jatkotoimenpiteisiin. (Mäkinen 2012b.)

Patologian laboratorioon tulleista läheteellisistä näytteistä tehdään patologisanatomisen lausunto ja -diagnoosi (PAD), jonka ulkoasu vaihtelee eri laboratorioissa. Hyvä lausunto on selkeä ja antaa tarkan kuvauksen näytteestä. Pienten koepalojen lausunnossa tulee mainita näytteen edustavuus ja koepalojen lukumäärä. Suurten näytteiden lausunnossa on löydöksen valokuvaus, sanallinen kuvailu, sekä merkinnät näytteenottokohdista. Kasvainmuutoksen lausunnossa tulee olla muutoksen edustavuus, kasvaintyyppi, kasvutapa, hyvän- tai pahanlaatuisuus, pahanlaatuisen kasvaimen erilaistumisaste, suhde ympäröiviin kudoksiin, kasvaimen poistomarginaalit ja pohdinta. Patologisanatomisen diagnoosi sisältää kuvaavan topografia- ja morfologiakoodin, joiden myötä diagnoosit ovat yhdenmukaisia ja vertailtavissa eri laboratorioiden kesken. (Mäkinen 2012c.)

### 2.2.2 Kudosleike

Suurin osa näytteistä saapuu histologian laboratorioon formaliinissa, joka on näytteen säilymisen varmistava fiksatiivi (Karttunen & Vuopala 2005). Osa näytteistä saapuu jääleike- ja tuorenäytteenä, joiden käsittely poikkeaa fiksoiduista näytteistä (Ståhle 2013). Jääleike tehdään kiireellisissä tapauksissa, kuten kasvainta poistettaessa ja sen valmistuminen kestää noin 5-20 minuuttia (Karttunen & Vuopala 2005). Kudosnäytteen valmistuminen kestää vähintään 3-5 vuorokautta sen saavuttua histologian laboratorioon. Luuta ja kalkkiutunutta kudosta sisältävät näytteet dekalsifoidaan ja niiden valmistuminen kestää kauemmin. Valmistumisen jälkeen näyte menee patologin arvioitavaksi. (Mäkinen 2012a.)

Näytteen sisään kirjaamisen yhteydessä näytteelle annetaan tunnistenumero, joka tulostetaan lähetteeseen ja näytekasetteihin. Pienet biopsianäytteet siirretään suoraan kasetteihin ja sitä suuremmat näytteet pilkotaan ensin sopiviksi paloiksi. Kasetit asetetaan kuduskuljetusautomaattiin. (Ståhle 2013.) Kuduskuljetusautomaatissa tapahtuu kuduskuljetus, jossa poistetaan kudosten vesi ja rasva sekä kiinnitetään kudokset. Tällä käsittelyllä varmistetaan näytteiden säilyvyys ja kudusrakenteiden kovettuminen. Tämän jälkeen näytteet valetaan parafiiniin, joka mahdollistaa ohuiden leikkeiden leikkaamisen. (Mäkinen 2012a.) Tästä näyteblokista leikataan mikrotomilla 2-4 µm:n paksuisia leikkeitä, jotka siirretään puhtaalle objektilasille, suoristetaan ja kiinnitetään +45 °C vesihauhteessa, valutetaan hetki pystyasennossa ja kiinnitetään +60 °C lämpölevyllä 10-15 minuuttia. Tämän jälkeen näytteet värjätään ja päällystetään. (Ståhle 2013.) Tässä opinäytetyössä yhtenä näytemateriaalina käytetään keuhkokudosta, josta on valmistettu näytelasit edellä mainitulla tavalla.

### 2.2.3 Yleisimmät värjäykset

Hematoksyliini-eosiinivärjäys (HE) on eniten käytetty histologinen värjäys, joka koostuu hematoksyliinistä ja eosiinista (Hirsimäki 1999c; Bancroft & Layton 2013). Tunnetuin yhdistelmä HE-värjäyksessä on Delafieldin hematoksyliini ja alkoholiliukoinen eosini Y (Naukkarinen 2000). Värjäys on vesiliukoinen ja tuo hyvin esiin eri kudusrakenteet ja erityisesti tumien sisärakenteen, jonka vuoksi sitä käytetään erityisesti syövän histopatologisessa diagnostiikassa. Menetelmä värjää kudusrakenteet niiden happamuuden ja

emäksisyyden perusteella. Hematoksyliinin hapetustuote hemateiini värjää tuman kromatiinin siniseksi. Eosiini värjää sytoplasman ja sidekudossäikeet punaiseksi. (Hirsimäki 1999c; Bancroft & Layton 2013.) Värjäystulosta heikentää liian vähäiset vesihuuhtelut ja jos Delafieldin hematoksyliiniliuosta ei suodateta ennen värjäystä (Hirsimäki 1999c).

### 2.3 Grocott-värjäys

Grocott-värjäystä eli hopea-methenamiini-värjäystä käytetään *Pneumocystis jirovecii* ja sienten osoittamiseen (Hirsimäki 1999a). Hopeavärjäykset ovat tähän tarkoitukseen parempia kuin muut menetelmät, koska ne antavat hyvän kontrastin näytteen organismin ja taustaväriin välille (Bales 2006). Hopeavärjäykset perustuvat hopeasuolan eli hopeanitritin pelkistymiseen metalliseksi hopeaksi kudskomponentteihin. Alkalisoinnalla hopealiuos tai nostamalla reaktiolämpötilaa voidaan lisätä hopeasuolan tunkeutumista kudokseen. Hopeasuolaa jää tiiviisiin kudoksiin kuten sienirihmihin. (Naukkarinen 2000.)

*Pneumocystis jirovecii* on ennen tunnettu *Pneumocystis carinii* ja se luokitellaan nykyään enemmän sieneksi kuin alkueläimeksi. Se aiheuttaa keuhkokuumetta varsinkin immuunipuutteisilla potilailla ja onkin yksi AIDS -potilaiden vaarallisimpia infektioita. *Pneumocystis jirovecii* esiintyy lähinnä keuhkoissa ja harvoin muissa kehon osissa kuten suolistossa ja imusolmukkeissa. (Bartlett 2013.) Kypsät organismit muodostavat halkaisijaltaan 4-6 µm kokoisia kystia, jotka sisältävät 5-8 pistemäistä rakennetta. Kystan puhjetessa ne vapautuvat ja muodostavat kypsyessään uusia kystia. (Koss & Melamed 2006; Bartlett 2013.)

TYKS-SAPA-liikelaitoksen patologian palvelualueen laboratoriossa Grocott-värjäys tehdään käsivärjäyksenä. Näytemateriaaleina ovat sytologiset bronkoalveolaariset lavaationäytteet (BAL) ja histologiset parafiinileikkeet. Ennen värjäystä tehdään esikäsittely, jossa fiksoimattomat näytteet fiksoidaan ja parafiinileikkeille suoritetaan parafiinin poisto. Värjäyksessä kromihappo hapettaa solu- tai kudusrakenteita aldehydeiksi ja edelleen reagoimattomiksi ryhmiksi, jonka jälkeen kromihappo poistetaan natriumtiosulfaatilla. Sienirihmihin ja *Pneumocystis jirovecii* saostuu hopeaa alkaalisessa methenamiini-hopeanitraattiliuoksessa, jolloin ne värjäytyvät mustiksi. Vastavärjäykseen käytetään eosiniä. Positiivisena kontrollina toimii histologinen sieni positiivinen leike. Sienirihmojen ja *Pneumocystis jirovecii* tunnistus tapahtuu rakenteen ja mustan värin perusteella. (Hirsimäki 1999a.)

## 2.4 Ziehl-Neelsen-värjäys

Ziehl-Neelsen menetelmä on mykobakteerivärjäys, joka värjää haponkestävät sauvat. Värjäystä käytetään *Mycobacterium tuberculosis* -lajin osoittamiseen. (Hirsimäki 1995; Pynninen 2013.) Muut mykobakteerit värjäytyvät epäluotettavammin, koska ne voivat menettää väriä happo-alkoholikäsittelyssä (Katila 2000). Ziehl-Neelsen-värjäys perustuu fenolifuksiinin tunkeutumiseen mykobakteerin rasvakapselin läpi ja ylimääräisen värin poistamiseen suolahappo-etanolilla, kunnes väriä on vain mykobakteereissa (Naukkari-nen 2000).

Mykobakteereja tunnetaan yli 120 lajia, joista tärkein on *Mycobacterium tuberculosis*. Muita tärkeitä mykobakteereita ovat *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. fortuitum*, *M. lentiflavum* ja *M. leprae*. (THL 2015a.) Mykobakteerit ovat suoria tai hieman kaarevia, liikku-mattomia ja itiöttömiä sauvoja, joiden haponkestävyys perustuu niiden soluseinän suu-reen rasvapitoisuuteen. *Mycobacterium tuberculosis* -bakteeri aiheuttaa tuberkuloosia, joka on maailmanlaajuisesti tärkeimpiä infektioitauteja. (Liippo, Soini & Vasankari 2010.) Tavallisin muoto on keuhkotuberkuloosi, mutta tautia voi ilmetä myös muissa elimissä. Oireita ovat esimerkiksi pitkittynyt yskä, yleiskunnon heikkeneminen ja limaiset yskökset. (THL 2015b.)

TYKS-SAPA-liikelaitoksen patologian palvelualueen laboratoriossa Ziehl-Neelsen-vär-jäys tehdään käsivärjäyksenä. Näytteenä ovat histologiset parafiinileikkeet, joille suori-tetaan parafiinin poisto ennen värjäystä. Värjäyksessä käytetään lämpökäsiteltyä karbo-lifuksiinia, jonka fenoli ja alkoholi auttavat fuksiinia tunkeutumaan bakteereihin. Lämpö-käsittely +37 °C:ssa tehostaa värin pääsyä bakteerin lipidikalvon läpi. Punainen väri pois-tetaan suolahappo-alkoholilla muista rakenteista ja tausta värjätään light green-väriliu-oksella. Kaikkiin värjäyksiin otetaan mukaan parafiinileikkeestä tehty kontrollilasi. Vär-jäyksessä haponkestävät sauvat värjäytyvät punaiseksi ja tausta vihreäksi. (Hirsimäki 1995.)

## 2.5 Työturvallisuus

Työturvallisuuslaki on säädetty takaamaan työturvallisuus. Lailla turvataan ja ylläpide-täänöntekijöiden työkykyä parantamalla työolosuhteita ja työympäristöä. Työturvalli-suuslailla myös ennalta ehkäistään ja torjutaan työtapaturmia, ammattitauteja ja muita

työstä ja työympäristöstä johtuvia työntekijöiden terveyshaittoja. Työnantajalla ja työntekijällä on yleisiä velvollisuuksia. Työnantajan pitää huolehtia muun muassa työntekijöiden terveydestä ja turvallisuudesta työssä, sekä ottaa kaikki niihin vaikuttavat tekijät huomioon. Työntekijän pitää noudattaa tarvittavaa järjestystä, huolellisuutta, varovaisuutta ja siisteyttä työnsä ja työolosuhteiden turvallisuuden ja terveellisuuden ylläpitämiseksi, sekä noudattaa työnantajan määräyksiä ja ohjeita. Työturvallisuuslain mukaan turvallisuudelle tai terveydelle haittaa tai vaaraa aiheuttavien kemiallisten tekijöiden altistusta on rajoitettava niin vähäiseksi, ettei se aiheuta haittaa tai vaaraa työntekijän terveydelle, turvallisuudelle tai lisääntymisterveydelle. (Työturvallisuuslaki 2002/738.)

Kemikaalilaki on säädetty suojelemaan terveyttä ja ympäristöä kemikaalien aiheuttamilta vaaroilta ja haitoilta. Niitä ehkäistään noudattamalla huolellisuutta ja varovaisuutta kemikaalin ominaisuuksien mukaan, sekä valitsemalla vähiten vaaraa aiheuttava kemikaali tai menetelmä. (Kemikaalilaki 2013/599.) Vaaralliseksi luokitelluista aineista, seoksista ja luokittelemattomista seoksista on laadittu käyttöturvallisuustiedote, josta saadaan tietoa aineen tai seoksen riskeistä, ominaisuuksista ja turvallisesta käytöstä (Tukes 2016). Tässä opinnäytetyössä tehtävien värjäyksien vaaroja ovat kemialliset tekijät ja työssä käytettävät vaaralliset aineet. Niille altistuminen tulisi rajoittaa mahdollisimman vähäiseksi.

TYKS-SAPA-liikelaitoksen patologian palvelualueen sytologian laboratoriossa käsin tehtävässä Grocott-värjäyksessä käytetään terveydelle vaarallisia tai haitallisia aineita, kuten kromi VI oksidia, hopeanitraattia ja natriummetabisulfiittia (Hirsimäki 1999a). Kromi VI oksidi on erittäin myrkyllinen, syövyttävä ja hapettava jauhe, joka hengitettynä aiheuttaa syöpäsairauden vaaraa (Hirsimäki 1999a; Merck Millipore 2015a). Natriummetabisulfiitti on haitallinen aine, joka ärsyttää hengityselimiä, sekä vaurioittaa vakavasti silmiä (Hirsimäki 1999a; Merck Millipore 2016a). Hopeanitraatti on voimakkaasti hapettava aine, ihoa syövyttävä ja silmiä vaurioittava. Kuumennettaessa hopeanitraatista vapautuu myrkyllisiä typen oksideja. (Hirsimäki 1999a; Merck Millipore 2016b.)

TYKS-SAPA-liikelaitoksen patologian palvelualueen histologian laboratoriossa käsin tehtävässä Ziehl-Neelsen-värjäyksessä terveydelle vaarallisia tai haitallisia aineita ovat light green-väriliuos, fenoli, suolahappo (HCl) ja etikkahappo. Light green on haitallinen aine ja sen epäillään aiheuttavan syöpää. Fuksiinia sisältävä karbolifuksiiniliuos ja light green-väriliuos kerätään erilliseen astiaan värjäyksen jälkeen ja hävitetään ongelmajätelaitoksella. (Hirsimäki 1995.) Fenoli vaurioittaa vakavasti silmiä, ärsyttää ihoa ja on

vaarallinen ympäristölle (Merck Millipore 2015b). Suolahappo on syövyttävää ja ihoa ärsyttävää (Merck Millipore 2015c). Etikkahappo syttyy helposti, syövyttää, sekä aiheuttaa iho- ja silmävaurioita (Merck Millipore 2010).

Sekä Grocott- että Ziehl-Neelsen-värjäyksessä käytetään ksyleeniä, joka on helposti syttyvää, ärsyttää ihoa ja on erittäin vaarallista hengitettynä ja nieltynä. Pitkittynyt tai toistuva altistus voi vahingoittaa sisäelimiä. Ksyleeniä ei saa päästää viemäriin ja sen hengittämistä ja muuta sille altistumista tulee välttää. (Merck Millipore 2016c.) Haitallisilta kemikaaleilta suojaudutaan käyttämällä suojakäsineitä ja käsittelemällä kemikaaleja vetokaapissa (Hirsimäki 1995; Hirsimäki 1999a).

## 2.6 Artisan Link -erikoisvärjäysautomaatti

Artisan Link -erikoisvärjäysautomaatti on suunniteltu erikoisvärjäyksen laadukkaaseen värjäämiseen. Värjäysautomaatin järjestelmään kuuluu näyteprosessori, tietokone, tulostin ja käyttövalmiit Artisan Link -reagenssit. Värjäysautomaattiin mahtuu 48 näytelasia ja 50 reagenssia. Näytelaseja voidaan lämmitellä huoneenlämmöstä 65 °C:een. Reagenssit ovat kaseteissa, jotka annostelevat näytelasille tarkasti oikean määrän reagenssia. Reagenssit säilytetään ohjeen mukaan ja niiden tulee olla huoneenlämpöön lämmenneitä ennen ajon aloittamista. (Agilent 2017a; Agilent 2017b.) Reagenssien väärä säilytys saattaa aiheuttaa saostumista ja kemiallista hajoamista (Dako 2011). Viivakoodinlukija lukee reagenssien ja näytteiden viivakoodit, mikä lisää laitteen luotettavuutta, vähentää virheitä ja nopeuttaa näytteiden värjäystä (Agilent 2017a; Agilent 2017b). Viivakooditunnistuksen jälkeen näytteet kulkeutuvat annostelijalle ja levitys/sekoituspiisteelle. Tämän jälkeen ne siirtyvät imupisteelle, jossa käytetyt reagenssit imetään pois. Käytetyt reagenssit jaotellaan haitallisuuden perusteella orgaanisiin liuottimiin, happoihin, haitallisiin kemikaaleihin ja vesiliukoisiin jätteisiin. Tällä jaottelulla minimoidaan jätteen tuotto. (Dako 2011.) Artisan Link -erikoisvärjäysautomaatti on esitetty kuvassa 1.

Artisan Link -värjäyskittejä on yhteensä 31 ja ne ovat käyttövalmiita eli niitä ei liuoteta tai laimenneta (Agilent 2017c). Värjäyskitit ovat 50 tai 100 testin suuruisia (Agilent 2017a). Grocott's Methenamine Silver Eosin Stain -kittiä käytetään *Pneumocystis jirovecii* ja sienien osoittamiseen. Kontrollina voidaan käyttää *Aspergillusta*, *Candidaa* tai *Pneumocystistä* sisältävää kudospäätettä. Värjäyksessä *Pneumocystis* ja sienet värjäytyvät mustaksi ja tausta vaaleanpunaiseksi. Acid-Fast Bacteria Stain -kitillä osoitetaan haponkestävät sauvabakteerit, jotka kuuluvat mykobakteerien sukuun. Kontrollina voidaan käyttää



haponkestävillä sauvoilla infektoidunutta kudosta. Värjäyksessä haponkestävät sauvat värjäytyvät punaisen eri sävyillä ja tausta vaaleansiniseksi. (Agilent 2017d.) Tässä opin-  
näytetyössä käytettävät kitit ovat Grocott's Methenamine Silver Eosin Stain Kit eli Gro-  
cott-värjäyskitti, sekä Acid-Fast Bacteria Stain Kit eli Ziehl-Neelsen-värjäyskitti.



Kuva 1. Artisan Link -erikoisvärjäysautomaatti (Agilent 2017a).

Värjäysautomaatilla on monia eri ominaisuuksia, jotka lisäävät työturvallisuutta ja tasa-  
laatusuutta, sekä helpottavat työntekijöiden työtehtäviä (Shelton 2010; Kirjavainen  
2013). Melkein kaikkiin erikoisvärjäyksiin on olemassa käyttövalmiita reagensseja ja kit-  
tejä. Reagensseja voi valmistaa myös käsin laboratoriossa, mutta se vie aikaa, lisää vir-  
helähteitä ja altistaa työntekijän reagenssien haitallisille kemikaaleille. Erikoisvärjäysau-  
tomaatin käyttövalmiit reagenssit ja suljetut jätteastiat vähentävät kemikaalialtistusta,  
mikä lisää työturvallisuutta. Käsin tehtävät värjäykset sitovat enemmän työvoimaa kuin  
värjäysautomaatilla tehtävät värjäykset. Erikoisvärjäysautomaatin värjäysohjelmien joi-  
takain parametreja on mahdollista muuttaa laboratorion ja patologin tottumusten mu-  
kaiseksi. (Kirjavainen 2013.)

### **3 OPINNÄYTETYÖN TARKOITUS, TAVOITE JA TUTKIMUSTEHTÄVÄT**

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena on testata, voidaanko sytologian laboratoriossa käsin tehtävä Grocott-värjäys ja histologian laboratoriossa käsin tehtävä Ziehl-Neelsen-värjäys siirtää Artisan Link -erikoisvärjäysautomaatille. Tutkimus tehdään TYKS-SAPA-liikelaitoksen patologian palvelualueen laboratoriolle. Tavoitteena on automaatioon siirtymisen myötä helpottaa työntekijöiden työtehtäviä ja parantaa työturvallisuutta vähentämällä työntekijöiden kontakteja Grocott- ja Ziehl-Neelsen-käsivärjäyksissä käytettävien terveydelle vaarallisten tai haitallisten kemikaalien kanssa.

Tutkimustehtävänä on värjätä Grocott- ja Ziehl-Neelsen-menetelmillä näytteitä Artisan Link -erikoisvärjäysautomaatilla. Värjäysautomaatilla testataan värjäysmenetelmiä eri parametreilla, jotta värjäyksille löydetään parhaat inkubaatioajat ja huuhtelujen lukumäärät. Automaattivärjäyksien laatua verrataan lopuksi aikaisemmin tehtyihin käsivärjäyksiin ja päätetään, voidaanko automaatioon siirtyä.

## 4 OPINNÄYTETYÖN KÄYTÄNNÖN TOTEUTUS

Opinnäytetyön suunnitelman tekeminen ja lähteiden hankkiminen aloitettiin lokakuussa 2016. Opinnäytetyön tutkimuslupa haettiin Turku Clinical Research Centre -tutkimuskeskuksesta joulukuussa 2016. Tutkimuslupa on esitetty liitteessä 1. Tutkimuksessa kustannuksia aiheuttivat värjäyskitit, jotka toimeksiantaja maksoi.

Opinnäytetyön käytännön toteutus suoritettiin keväällä 2017 TYKS-SAPA-liikelaitoksen patologian palvelualueen histologian laboratoriossa. Tutkimuksessa käytettiin jo aikaisemmin diagnosoituja positiivisia ja negatiivisia näytteitä. Grocott-värjäykseen saatiin näytteitä vanhoista ylijääneistä BAL-näytelaseista. Ziehl-Neelsen-värjäyksen kudoksenäytteet hankittiin keväällä 2017 arkistoista histologian laboratorion toimesta. Värjättyjä näytelaseja arvioitiin yhdessä solubiologin ja patologin kanssa.

### 4.1 Grocott-värjäyksen käytännön toteutus

Grocott-värjäyksen tutkimusaineisto koostui seitsemästä eri näytteestä, joista kolme oli positiivisia ja neljä negatiivisia. Näytteet on esitetty taulukossa 1. BAL-näytteet esikäsiteltiin ja niistä valmistettiin näytelasit Cytospin-solusentrifuugilla sytologian laboratorion toimesta laatukäsikirjan työohjeiden mukaisesti. Näytelasit olivat jääneet yli aikaisemmin tehdyistä ja diagnosoiduista Grocott-käsivärjäyksistä. Poikkeuksena oli näyte 2, jota säilytettiin jääkaapissa tuoreena puolitoista vuotta ennen Cytospin-solusentrifuugivalmisteen tekemistä. Jokaisesta positiivisesta BAL-näytteestä oli useampia näytelaseja, joita käytettiin eri värjäysohjelmien testauksessa. Grocott-värjäyksessä kontrollina toimi näyte 3, joka oli positiivinen histologinen näyte. Siitä leikattiin useammalle näytelasille 4 µm:n paksuisia leikkeitä liukumikrotomilla, jonka jälkeen ne kiinnitettiin lämpölevyllä 15 minuuttia. Ennen varsinaisia värjäyksiä BAL-näytelasit fiksoitiin laatukäsikirjan työohjeen mukaisesti. Ne olivat ensin viisi minuuttia 96 % alkoholissa, jonka jälkeen ne huuhdeltiin 70 % alkoholilla ja tislatussa vedellä. BAL-näytelaseja seisotettiin vielä viisi minuuttia Washing Solution-liuoksessa erikoisvärjäysautomaatin valmistajan suosituksen mukaan.

Taulukko 1. Grocott-värjäyksen näytteet.

Näyte	Tyyppi	Negatiivinen / Positiivinen
1	BAL	pos.
2	BAL	pos.
3	kontrolli, keuhko	pos.
4	BAL	neg.
5	BAL	neg.
6	BAL	neg.
7	BAL	neg.

Ennen värjäyksen aloittamista värjäysautomaatille tehtiin tarvittavat toimenpiteet. Jääkaapissa säilytettävät reagenssit otettiin huoneenlämpöön tuntia ennen värjäyksen aloittamista ja laitettiin sitten värjäysautomaattiin. Näytelaseille tulostettiin tarrat tunnistamista varten ja ne asetettiin rajaajan kanssa paikoilleen. Grocott-värjäyksen ohjelmat on esitetty taulukossa 2. Ensin testattiin 1. ohjelma, joka oli värjäysautomaatissa valmiina oleva ohjelma Grocott-värjäykselle. Näytteet 1-5 testattiin tällä ohjelmalla. Näytteitä inkuboitettiin methenamiini-hopeanitraattiliuoksessa 630 sekuntia ja taustaväriä käytetyssä eosiinissa 60 sekuntia. Tarkka kuvaus 1. ohjelmasta on esitetty liitteessä 2.

Ohjelmia tehtiin vielä kaksi lisää, koska haluttiin lisätä taustaväriä vahvuutta. Methenamiini-nitraattiliuoksen inkubaatioaikaa eikä reaktiolämpötiloja muutettu. Näytteet 1 ja 2 testattiin 2. ohjelmalla, jossa eosinin inkubaatioaika oli 90 sekuntia. Tarkka kuvaus 2. ohjelmasta on esitetty liitteessä 3. Taustaväriä haluttiin vielä voimakkaammaksi, joten 3. ohjelmaan eosinin inkubaatioajaksi asetettiin 120 sekuntia. Tällä ohjelmalla testattiin näytteet 1-3 ja 6-7. Tarkka kuvaus 3. ohjelmasta on esitetty liitteessä 4.

Taulukko 2. Grocott-värjäyksen ohjelmien inkubaatioajat.

	1. ohjelma	2. ohjelma	3. ohjelma
Methenamiini-hopeanitraattiliuos	630s	630s	630s
Eosiini	60s	90s	120s

Värjäyksien jälkeen näytelasit olivat ksyleenissä vähintään 10 minuuttia, jonka jälkeen ne päällystettiin. Värjäystuloksia arvioitiin mikroskoopilla yhdessä solubiologin ja patologin kanssa. Ohjelmista parhaimmaksi valittiin 3. ohjelma, jossa methenamiini-hopeanitraattiliuoksen inkubaatioaika oli 630 sekuntia ja taustavärin eli eosinin inkubaatioaikaa oli pidennetty 60 sekunnista 120 sekuntiin. 3. ohjelmalla testatut näytteet koostuivat kahdesta positiivisesta ja kahdesta negatiivisesta BAL-näytteestä, sekä positiivisesta histologisesta kontrollinäytteestä.

#### 4.2 Ziehl-Neelsen-värjäyksen käytännön toteutus

Ziehl-Neelsen-värjäyksen tutkimusaineisto koostui kahdeksasta eri näytteestä, joista viisi oli positiivisia ja kolme negatiivisia. Kaikki kolme negatiivista näytettä kiinnitettiin samalle näytelaseille, joka toimii näytteenä 6. Näytteet on esitetty taulukossa 3. Histologian laboratorion toimesta arkistoista kerättiin näyteblokit, jotka oli valmistettu laatukäsikirjan työohjeen mukaan. Näytteet oli diagnosoitu aikaisemmin Ziehl-Neelsen-käsivärjäyksistä. Kaikista kahdeksasta näyteblokista leikattiin liuku- ja rotaatiomikrotomilla 4 µm:n paksuisia leikkeitä useammalle näytelaseille, jotta niillä voitiin testata useampia eri värjäysohjelmia. Jokaiselle näytelaseille leikattiin myös positiivinen kontrolli. Näytteet kiinnitettiin lämpölevyllä 15 minuuttia.

Taulukko 3. Ziehl-Neelsen-värjäyksen näytteet.

Näyte	Kudos	Negatiivisuus / Positiivisuus
1	kontrolli	pos.
2	keuhko	pos.
3	keuhko	pos.
4	keuhko	pos.
5	obduktio, keuhko	pos.
6	keuhko	neg.

Ennen värjäyksien aloittamista erikoisvärjäysautomaatille tehtiin tarvittavat toimenpiteet. Jääkaapissa säilytettävät reagenssit otettiin huoneenlämpöön tuntia ennen värjäyksien aloittamista ja laitettiin sitten värjäysautomaattiin. Näytelaseille tulostettiin tarrat tunnistamista varten ja ne asetettiin rajaajan kanssa paikoilleen. Ziehl-Neelsen-värjäyksen ohjelmat on esitetty taulukossa 4. Ensin testattiin 1. ohjelma, joka oli värjäysautomaatissa

valmiina oleva ohjelma Ziehl-Neelsen-värjäykselle. Näytteet 1-6 värjättiin tällä ohjelmalla. Näytteitä inkuboitiin 600 sekuntia karbolifuksiinissa, 60 sekuntia suolahappo-alkoholissa ja metyleenisinin huuhteluja oli viisi kappaletta. Näyte 5 lähti osittain irti, joten se värjättiin uudelleen. Tarkka kuvaus 1. ohjelmasta on esitetty liitteessä 5.

Ohjelmia tehtiin vielä kaksi lisää, koska haluttiin vaalentaa taustaväriä eli metyleenisiniä ja vahvistaa bakteerien värjäytymistä karbolifuksiinilla. Karbolifuksiinin inkubaatioaikaa eikä reaktiolämpötiloja muutettu. Näytteet 1-6 testattiin 2. ohjelmalla, jossa näytteet inkuboitiin suolahappo-alkoholissa 60 sekuntia ja metyleenisinin huuhtelujen määrät nostettiin viidestä kuuteen, koska taustaväriä haluttiin vaalentaa. Tarkka kuvaus 2. ohjelmasta on esitetty liitteessä 6. Näytteet 1-4 ja 6 testattiin 3. ohjelmalla, jossa metyleenisinin huuhtelujen määrä pysyi viidessä ja näytteiden inkubaatio suolahappo-alkoholissa laskettiin 60 sekunnista nollaan sekuntiin, koska bakteerien värjäytymistä haluttiin vahvistaa. Tarkka kuvaus 3. ohjelmasta on esitetty liitteessä 7.

Taulukko 4. Ziehl-Neelsen-värjäyksen ohjelmien inkubaatioajat ja huuhtelujen lukumäärät.

	1. ohjelma	2. ohjelma	3. ohjelma
Karbolifuksiini	600s	600s	600s
Suolahappo-alkoholi	60s	60s	0s
Metyleenisin huuhtelujen lukumäärät	5	6	5

Värjäyksen jälkeen näytelasit olivat ksyleenissä vähintään 10 minuuttia, jonka jälkeen ne päällystettiin. Värjäystuloksia arvioitiin mikroskoopilla yhdessä solubiologin ja patologin kanssa. Ziehl-Neelsen-värjäyksen osalta testauksia pitää vielä jatkaa, ennen kuin se voidaan ottaa käyttöön laboratoriossa käsivärjäyksen tilalle.

### 4.3 Opinnäytetyön metodologiset lähtökohdat

Kvantitatiivisen eli määrällisen tutkimusmenetelmän tarkoituksena on selittää, kuvata, kartoittaa, vertailla tai ennustaa luonnonilmiöitä tai ihmisiä koskevia asioita tai ominaisuuksia. Määrällisessä tutkimuksessa mittaamisessa hyödynnetään teoriaa, esitetään hypoteesi, sekä löydetään ja selitetään asioiden syy-seuraus-suhde. (Vilkkä 2007.) Tutkimus perustuu positivismiin, jossa tieto saadaan aistihavaintojen ja loogisen päättelyn avulla. Käsitteiden määrittelyllä pyritään hahmottamaan asioita teoreettisella tasolla. (Hirsjärvi ym. 2009; Aira & Seppä 2010.) Kvantitatiivisessa tutkimuksessa keskeisenä osana määritellään perusjoukko, josta valitaan otos tietyllä otantamenetelmällä. Otos edustaa perusjoukkoa, johon tulokset halutaan yleistää. (Vilkkä 2007; Kankkunen & Vehviläinen-Julkunen 2013.) Koehenkilöt valitaan tarkasti ja havaintoaineisto on määrällistä eli numeerisesti mitattavissa. Tutkimustulokset havainnollistetaan tilastomatematisina lukuina. (Hirsjärvi ym. 2009; Aira & Seppä 2010.)

Tämän opinnäytetyön tutkimusmenetelmä on kvantitatiivinen. Tutkimuksessa käytettiin menetelmän tyypillisiä piirteitä, kuten hypoteesin esittämistä, käsitteiden määrittelyä ja havaintoaineiston tarkkaa valitsemista. Hypoteesi eli oletamus oli, että erikoisvärjäykset toimivat Artisan Link -erikoisvärjäysautomaatilla. Värjäyksiin valittiin arkistoista positiivisia ja negatiivisia näytteitä, jotka edustivat tutkimuksen värjäyksien onnistumista. Värjäystuloksia arvioitiin visuaalisten aistihavaintojen avulla.

### 4.4 Opinnäytetyön eettisten näkökohtien tarkastelu

Tutkimus pitää tehdä hyvän tieteellisen käytännön mukaisesti, jotta tutkimus on eettisesti hyväksyttävä, uskottava ja luotettava (Launis 2007). Hyvässä tieteellisessä käytännössä tiedonhankinta-, tutkimus-, raportointi- ja arviointimenetelmien tulee olla tieteellisesti ja eettisesti kestäviä. Siinä noudatetaan myös tiedeyhteisön toimintatapoja ja viitataan asianmukaisesti muiden tutkijoiden töihin ja saavutuksiin. Tärkeitä toimintatapoja ovat rehellisyys, huolellisuus ja tarkkuus tutkimustyössä ja tutkimustulosten tulkinnassa. (Leino-Kilpi 2009; Vilkkä 2015; Vuorio 2015.) Hyvä tieteellinen käytäntö luo pohjan tieteelliselle tutkimukselle (Vuorio 2015).

Jos tutkimuksessa käsitellään henkilötietoja, on noudatettava vaitiolovelvollisuutta ja tietosuojaa (Henkilötietolaki 523/1999). Plagiointi, anastaminen ja havaintojen vääristely

ovat hyvän tieteellisen käytännön vastaista (Clarkeburn & Mustajoki 2007; Vuorio 2015). Jos tutkimuksessa käytetään ihmisiä, tutkittavien itsemääräämisoikeus ja ihmisarvon kunnioitus turvataan tutkittavien vapaaehtoisella suostumuksella. Tämä edellyttää, että tutkittava saa tarpeeksi ymmärrettävää tietoa tutkimuksesta. (Kankkunen & Vehviläinen-Julkunen 2013; Keränen ym. 2015.) Tutkittavalla on oikeus kieltäytyä tutkimuksesta tai keskeyttää osallistumisensa (Kankkunen & Vehviläinen-Julkunen 2013; Vilkkä 2007).

Tämä opinnäytetyö tehtiin hyvän tieteellisen käytännön mukaisesti. Siinä noudatettiin vaitiolovelvollisuutta ja tietosuojaa. Kaikki vaiheet tehtiin huolellisesti, rehellisesti ja tarkasti. Tutkimuksessa ei plagioitu tai anastettu ja kirjallisuuslähteisiin viitattiin asianmukaisesti. Tässä opinnäytetyössä tutkimuskohteena olivat erilaiset patologiset näytteet, joita ei tarvinnut ottaa erikseen potilailta tutkimusta varten. Näytteet olivat jo aikaisemmin diagnosoituja ja ne kerättiin arkistoista tai ylijääneistä näytemateriaaleista. Tutkimuksessa ei käytetty potilaiden henkilötietoja, vaan näytteet identifioitiin juoksevilla numeroilla.



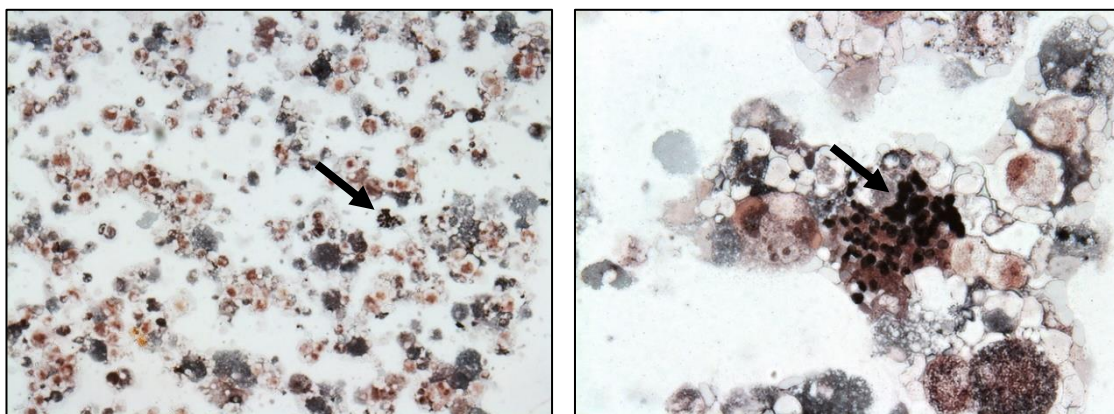
## 5 TUTKIMUSTULOKSET JA NIIDEN TARKASTELU

Värjäysten lopputuloksia tarkasteltiin visuaalisesti mikroskoopilla yhdessä solubiologin ja patologin kanssa. Arvioitiin, vastaako automaattivärjäyksien laatu aikaisemmin tehtyjä käsivärjäyksiä ja voidaanko Grocott- ja Ziehl-Neelsen-värjäyksien osalta siirtyä automaatioon. Värjäystulokset kuvattiin Carl Zeiss Axio Scope A1 -fluoresenssimikroskoopilla ja kuvien käsittelyyn käytettiin Q-Capture Prot -ohjelmaa.

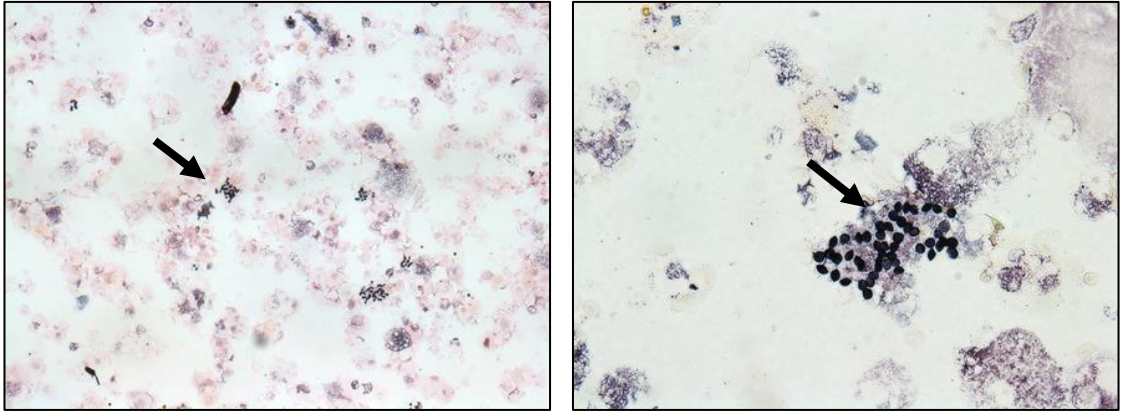
### 5.1 Grocott-värjäys

Näytteet 1-5 testattiin 1. ohjelmalla, jolla selvitettiin automaatin toimivuus Grocott-värjäyksen osalta. Automaattivärjäyksien laatua verrattiin aikaisemmin tehtyihin käsivärjäyksiin. Automaatin värjäystulokset todettiin toimiviksi ja ne vastasivat laadultaan käsivärjäyksiä. Näyte 2 irtosi näytelasilta värjäyksen aikana 1. ohjelmassa.

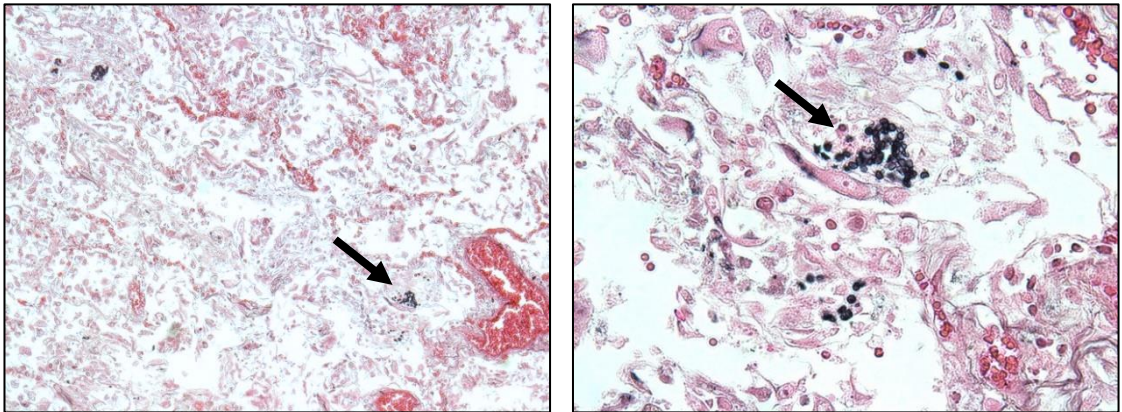
Kuvassa 2 nähdään aikaisemmin tehty käsivärjäys näytteestä 1, joka on käsivärjäyksen ja automaattivärjäyksen vertailua varten. Kuvissa 3 ja 4 nähdään positiiviset näytteet 1 ja 3, jotka on värjätty 1. ohjelmalla. Kuvissa 5 ja 6 nähdään negatiiviset näytteet 4 ja 5, jotka on värjätty myös 1. ohjelmalla. Kuvien vasen puoli on kuvattu 10x suurennoksella ja oikea puoli 40x suurennoksella. Nuolilla on osoitettu mustaksi värjäytyneet *Pneumocystis jirovecii*.



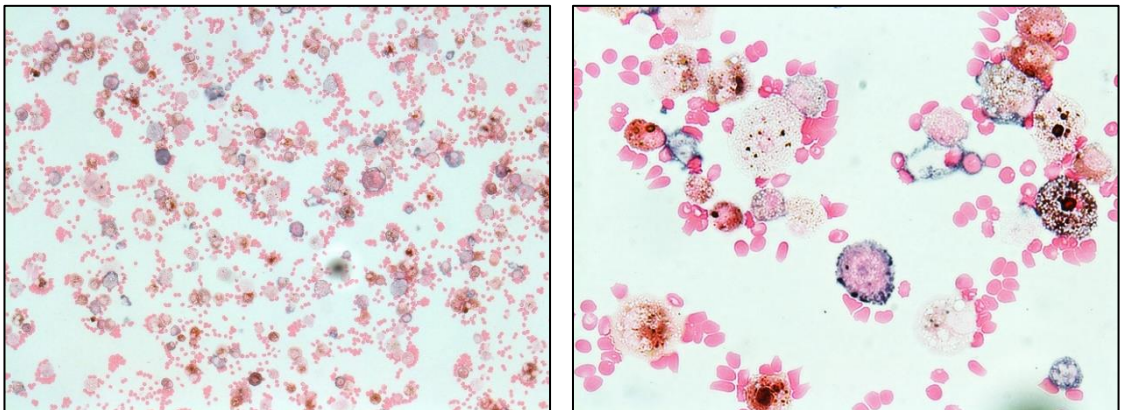
Kuva 2. Grocott-käsivärjäys, näyte 1.



Kuva 3. Grocott-värijäys automaattilla, näyte 1, ohjelma 1.

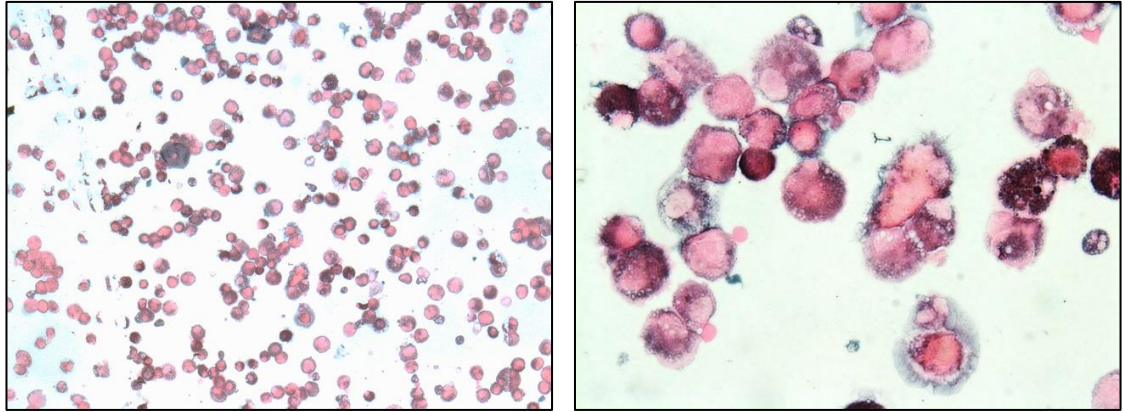


Kuva 4. Grocott-värijäys automaattilla, näyte 3, ohjelma 1.



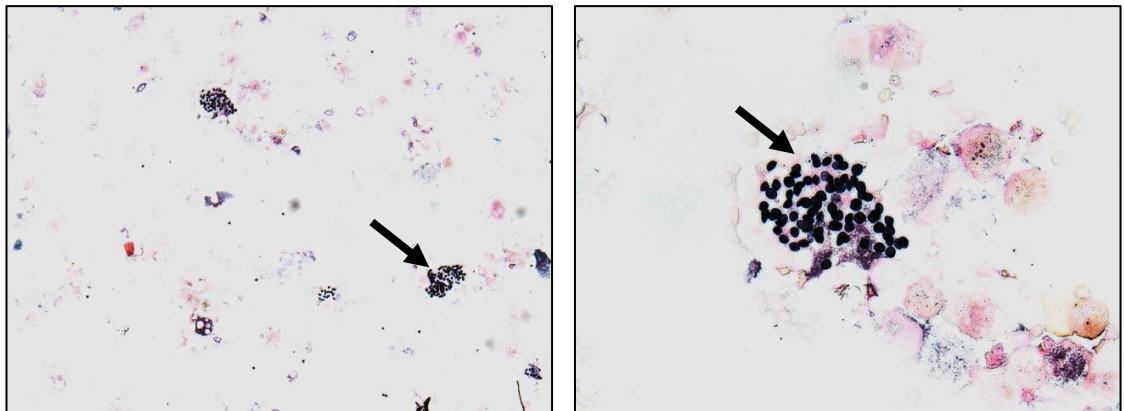
Kuva 5. Grocott-värijäys automaattilla, näyte 4, ohjelma 1.



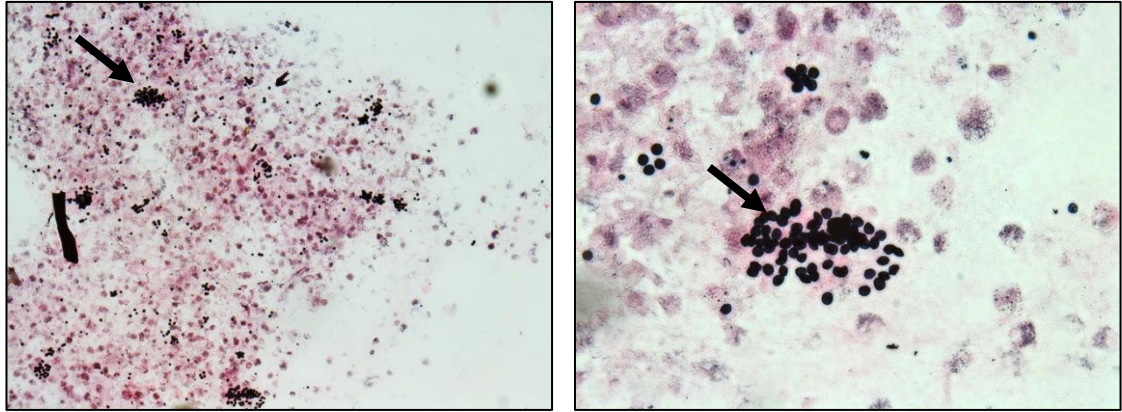


Kuva 6. Grocott-värijäys automaattilla, näyte 5, ohjelma 1.

Näytteet 1 ja 2 testattiin 2. ohjelmalla, jolla haluttiin lisätä taustavärin vahvuutta. Kuvissa 7 ja 8 nähdään positiiviset näytteet 1 ja 2, jotka on värjätty 2. ohjelmalla. Kuvien vasen puoli on kuvattu 10x suurennoksella ja oikea puoli 40x suurennoksella. Nuolilla on osoitettu mustaksi värjäytyneet *Pneumocystis jirovecii*. Taustavärin vahvuudella ei ollut merkittävää eroa 1. ohjelmaan verrattuna.

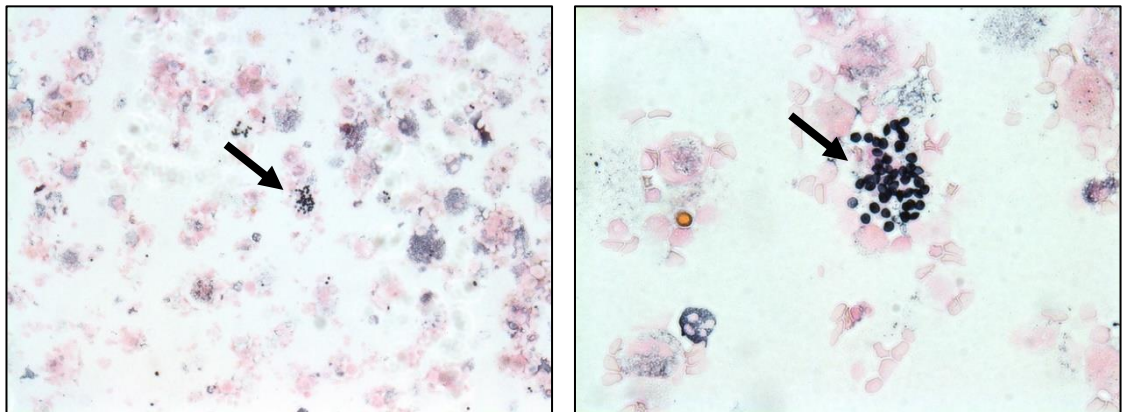


Kuva 7. Grocott-värijäys automaattilla, näyte 1, ohjelma 2.



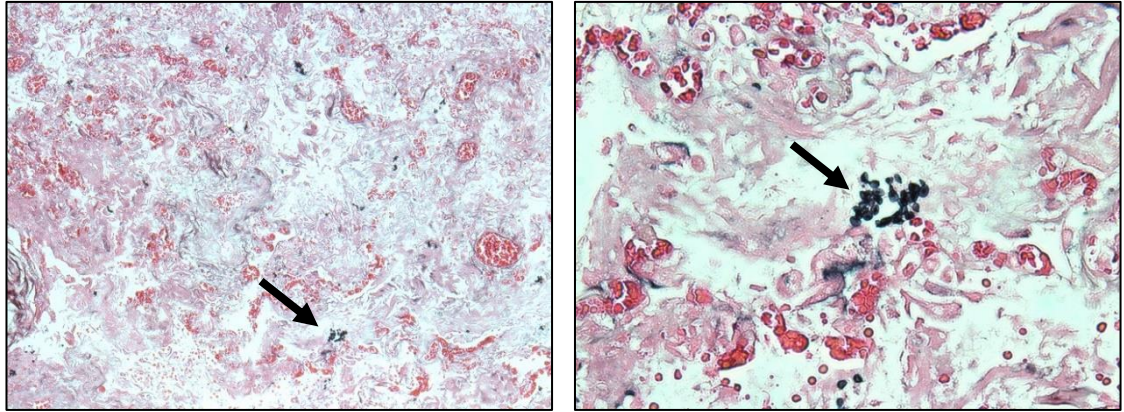
Kuva 8. Grocott-värjäys automaattilla, näyte 2, ohjelma 2.

Näytteet 1-3 ja 6-7 värjättiin 3. ohjelmalla. Näyte 2 irtosi näytelasilta värjäyksen aikana. Kuvissa 9 ja 10 nähdään positiiviset näytteet 1 ja 3. Kuvissa 11 ja 12 nähdään negatiiviset näytteet 6 ja 7. Kuvien vasen puoli on kuvattu 10x suurennoksella ja oikea puoli 40x suurennoksella. Nuolilla on osoitettu mustaksi värjäytyneet *Pneumocystis jirovecii*. Parhaimmaksi valittiin 3. ohjelma, koska taustaväri oli siinä vahvin. Muuten eri ohjelmien värjäystuloksissa ei ollut merkittäviä eroja lopputuloksen kannalta. Kaikissa ohjelmissa *Pneumocystis jirovecii* ja tausta värjäytyivät onnistuneesti.

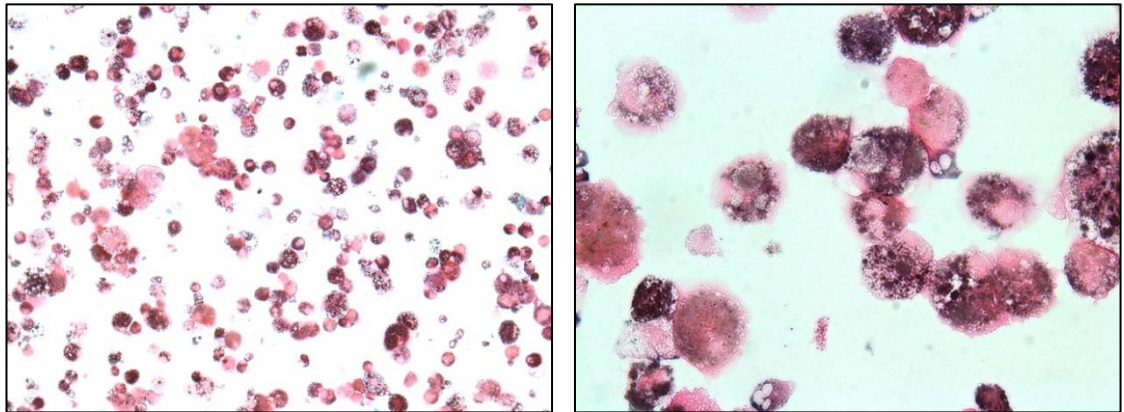


Kuva 9. Grocott-värjäys automaattilla, näyte 1, ohjelma 3.

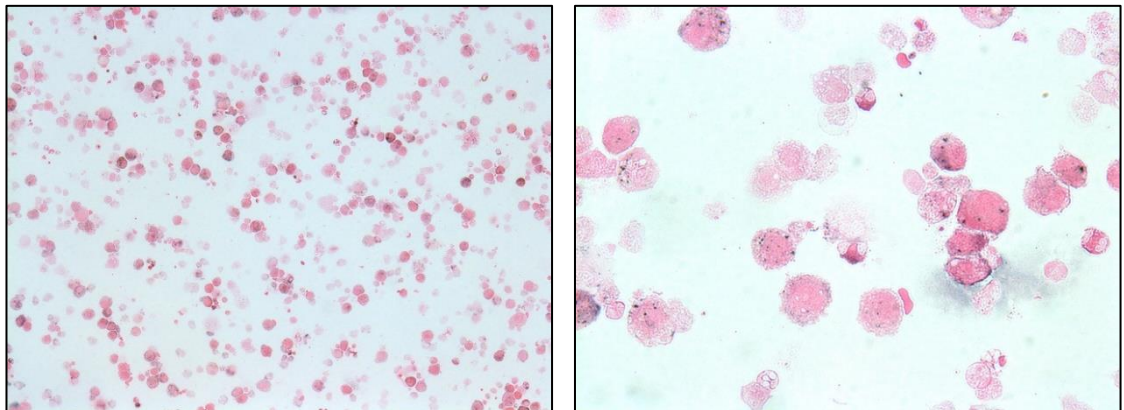




Kuva 10. Grocott-värijäys automaattilla, näyte 3, ohjelma 3.



Kuva 11. Grocott-värijäys automaattilla, näyte 6, ohjelma 3.

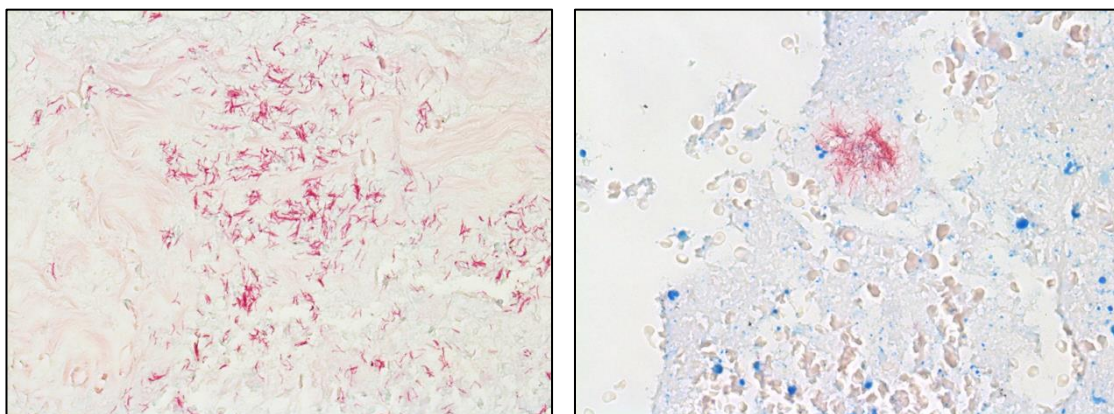


Kuva 12. Grocott-värijäys automaattilla, näyte 7, ohjelma 3.

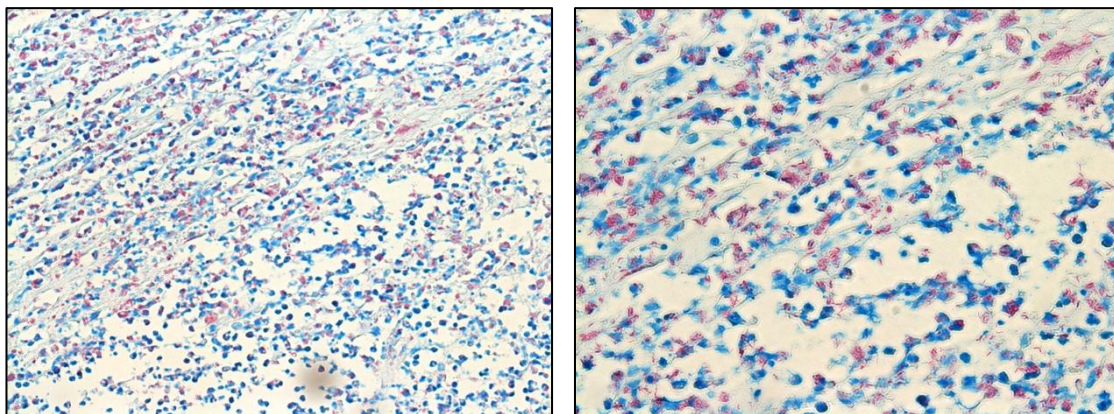
## 5.2 Ziehl-Neelsen-värjäys

Näytteet 1-6 testattiin 1. ohjelmalla, jolla selvitettiin automaatin toimivuus Ziehl-Neelsen-värjäyksen osalta. Automaattivärjäyksien laatua verrattiin aikaisemmin tehtyihin käsivärjäyksiin. Automaatti värjäsi bakteerit hieman heikommin kuin käsivärjäys ja negatiivisiin näytteisiin tuli epäspesifiä värjäytymistä karbolifuksiinista. Kuvissa 13 ja 14, sekä kuvissa 16 ja 17 nähdään punaiseksi värjäytyneet haponkestävät bakteerit.

Kuvassa 13 vasemmalla nähdään aikaisemmin tehty käsivärjäys näytteestä 3 ja oikealla automaattivärjäys 1. ohjelmalla näytteestä 3. Ne on kuvattu 40x suurennoksella. Kuvassa 14 nähdään positiivinen näyte 1, joka on värjätty 1. ohjelmalla. Kuvan vasen puoli on kuvattu 20x suurennoksella ja oikea puoli 40x suurennoksella. Kuvassa 15 nähdään negatiivinen näyte 6, joka on värjätty 1. ohjelmalla ja kuvattu 20x suurennoksella. Siinä esiintyy epäspesifiä punaista värjäytymistä.

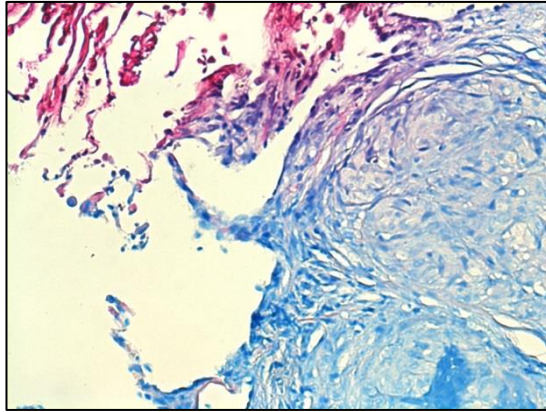


Kuva 13. Ziehl-Neelsen-käsivärjäyksen vertailu automaattimenetelmään, näyte 3.



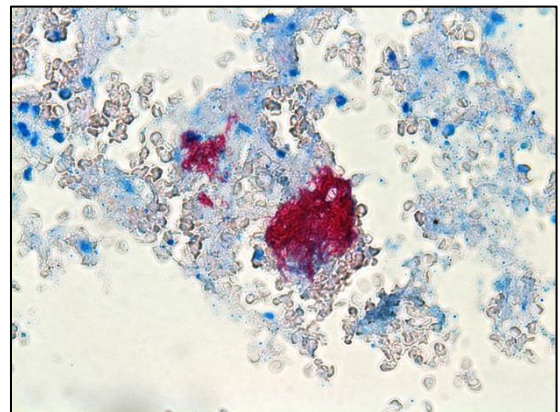
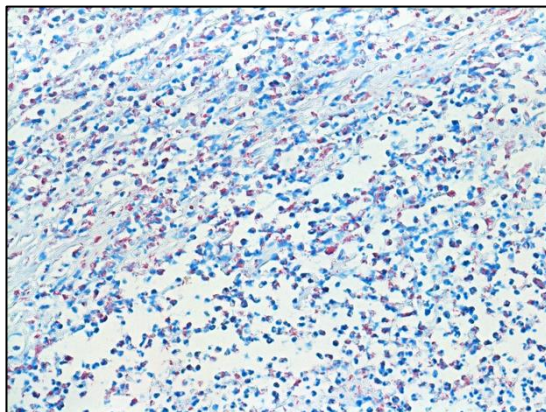
Kuva 14. Ziehl-Neelsen-värjäys automaatilla, näyte 1, ohjelma 1.



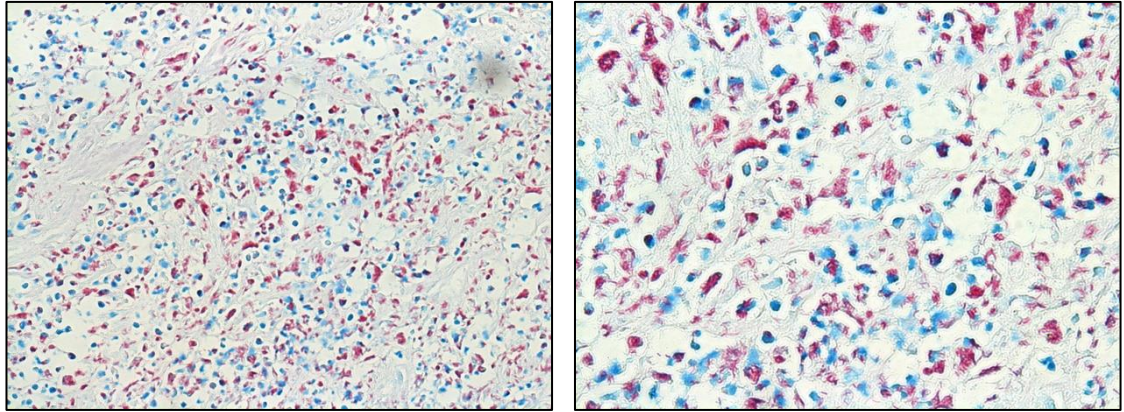


Kuva 15. Ziehl-Neelsen-värjäys automaattilla, näyte 6, ohjelma 1.

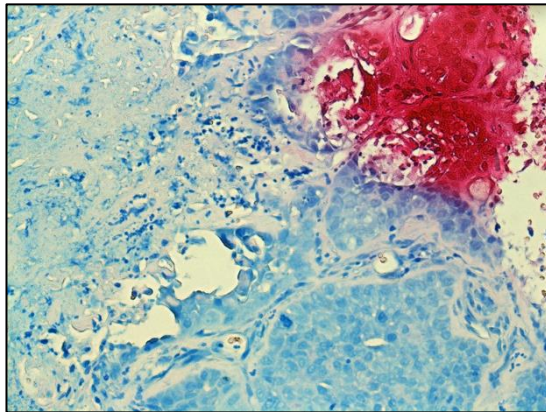
Näytteet 1-6 testattiin 2. ohjelmalla, jolla haluttiin vaalentaa taustaväriä. Kuvassa 16 nähdään positiivinen näyte 1, joka on värjätty 2. ohjelmalla. Näytteet 1-4 ja 6 testattiin 3. ohjelmalla, jolla haluttiin vahvistaa bakteerien värjäytymistä. Kuvassa 17 nähdään positiivinen näyte 1, joka on värjätty 3. ohjelmalla. Kuvien 16 ja 17 vasen puoli on kuvattu 20x suurennoksella ja oikea puoli 40x suurennoksella. Kuvassa 18 nähdään negatiivinen näyte 6, joka on värjätty 3. ohjelmalla ja kuvattu 20x suurennoksella. Siinä esiintyy epäspesifiä punaista värjäytymistä. Tätä ohjelmaa pidettiin parhaimpana, koska bakteerit värjäytyivät siinä vahvimmin. Ohjelmassa esiintyi kuitenkin eniten epäspesifiä värjäytymistä.



Kuva 16. Ziehl-Neelsen-värjäys automaattilla, näyte 1, ohjelma 2.



Kuva 17. Ziehl-Neelsen-värjäys automaattilla, näyte 1, ohjelma 3.



Kuva 18. Ziehl-Neelsen-värjäys automaattilla, näyte 6, ohjelma 3.



## 6 POHDINTA

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli testata, voidaanko sytologian laboratoriossa käsin tehtävä Grocott-värjäys ja histologian laboratoriossa käsin tehtävä Ziehl-Neelsen-värjäys siirtää Artisan Link -erikoisvärjäysautomaatille. Tavoitteena oli automaatioon siirtymisen myötä helpottaa työntekijöiden työtehtäviä ja parantaa työturvallisuutta vähentämällä työntekijöiden kontakteja Grocott- ja Ziehl-Neelsen-käsivärjäyksissä käytettävien terveydelle vaarallisten tai haitallisten kemikaalien kanssa. Opinnäytetyö tehtiin TYKS-SAPA-liikelaitoksen patologian palvelualueen laboratoriolle, jolle tutkimus oli ajankohtainen ja hyödyllinen. Lisäksi se kehitti tekijöidensä ammatillista kasvua ja edisti bioanalytiikon patologian laboratoriossa tarvitsemia taitoja. Tutkimuksen tekijät oppivat esimerkiksi käyttämään hyvin värjäysautomaattia ja tarkastelemaan kriittisesti värjäystuloksia.

Tutkimustulosten perusteella sytologinen Grocott-värjäys toimi automaattimenetelmällä ja se on tarkoitus ottaa käyttöön käsivärjäyksen tilalle TYKS-SAPA-liikelaitoksen patologian palvelualueen laboratoriossa. Värjäyksessä käytettiin vanhoja positiivisia näytteitä, koska uusia positiivisia näytteitä ei saatu tämän tutkimuksen keräyksen aikana. Tämä johtui siitä, että positiivisia BAL-näytteitä tulee niin harvoin. Positiivisia näytteitä oli värjäyksessä vain kolme, mutta määrää pidettiin siitä huolimatta riittävänä ja luotettavana värjäystulosten tulkinnan kannalta. Histologinen Ziehl-Neelsen-värjäys ei ollut tarpeeksi luotettava automaattimenetelmällä, eikä sitä vielä oteta käyttöön laboratoriossa. Värjäyksissä bakteerit värjäytyivät oikein, mutta negatiivisissa näytteissä ilmeni tulkintaa häiritsevää epäspesifiä värjäytymistä. Tämän syytä ei päästy selvittämään, joten värjäystä pitää testata lisää eri parametreilla, jotta värjäykselle löydetään toimivin ohjelma.

Värjäyksille pyrittiin löytämään sopiva värjäysohjelma muuttamalla inkubaatioaikoja ja huuhtelujen lukumääriä. Parametrien muuttaminen oli tässä tutkimuksessa tärkeä ominaisuus, jonka avulla päästiin haluttuun lopputulokseen. Myös Kirjavainen (2013) totesi tämän ominaisuuden hyödylliseksi. Värjäysautomaatioon siirtyminen Grocott-värjäyksen osalta nähtiin perustelluksi, koska siinä on monia hyötyjä verrattuna käsivärjäykseen. Automaation siirtyminen parantaa työturvallisuutta, tasalaatuisuutta ja helpottaa työntekijöiden työtehtäviä, mikä todettiin jo aikaisemmin tässä opinnäytetyössä Sheltonin (2010) ja Kirjavaisen (2013) kirjallisuuteen perustuen.

Opinnäytetyössä otettiin huomioon tutkimustulosten luotettavuuteen ja eettisyyteen vaikuttavat tekijät. Lähteiksi valittiin luotettavia ja mahdollisimman uusia julkaisuja. Tutkimuksen aikana työskenneltiin huolellisesti, tarkasti ja rehellisesti. Aseptisuudesta ja työturvallisuudesta huolehdittiin käyttämällä suojatakkia ja -käsineitä, sekä vetokaappia. Värjäyksissä käytetyt näytteet valmistettiin laboratorion laatukäsikirjan ohjeiden mukaan. Artisan Link -erikoisvärjäysautomaattia käytettiin siihen perehdytettyjen työntekijöiden opastuksella, jolla varmistettiin automaatin oikeanlainen käyttö. Automaatin luotettavuutta lisäsivät myös viivakooditunnistus ja käyttövalmiit reagenssit, jotka säilytettiin ja esikäsiteltiin ohjeiden mukaan.

Näytemateriaalien toimivuutta värjäyksissä jouduttiin pohtimaan, koska kaksi näytettä irtosi värjäyksien aikana. Grocott-värjäyksessä näyte 2 irtosi 1. ja 3. ohjelmassa, mikä saattoi johtua siitä, että sitä säilytettiin jääkaapissa tuoreena puolitoista vuotta ennen Cytospin-solusentrifuugivalmisteen tekemistä. Tämän näytteen käsittely poikkeaa laatukäsikirjan työohjeesta. Fiksoimaton BAL-näyte pitäisi käsitellä kahden tunnin sisällä näytteenotosta (Hirsimäki 1999b). Ziehl-Neelsen-värjäyksessä näyte 5 irtosi 1. ja 2. ohjelmalla, minkä vuoksi sitä ei värjätty enää 3. ohjelmalla. Irtoaminen saattoi johtua näytemateriaalista, joka muista näytteistä poiketen oli obduktiosta.

Värjäystuloksia tarkasteltiin patologin ja solubiologin kanssa, joten lopputuloksia arvioitiin asiantuntevasti. Värjäyksien luotettavuutta arvioitiin kontrollinäytteiden avulla ja ne ajettiin jokaisella värjäysohjelmalla. Jokaista näytettä verrattiin aikaisemmin tehtyyn käsivärjäykseen, jonka avulla arvioitiin värjäyksien toimivuutta. Ziehl-Neelsen-värjäyksen automaattimenetelmässä käytettiin eri taustaväriä kuin käsivärjäyksessä. Tämä saattoi vaikuttaa värjäystulosten vahvuuden arviointiin, mutta värjäyksen toimivuuden kannalta tällä ei ollut merkitystä. Tässä opinnäytetyössä esitettyjen kuvien värien sävyerot johtuvat kuvaajien kokemattomuudesta.

Jatkotutkimusehdotuksena voisi olla Ziehl-Neelsen-värjäyksen testaus eri parametreilla, jotta epäspesifi värjäytyminen saadaan pois ilman, että bakteerien värjäytyvyys kärsii. Tämän myötä myös Ziehl-Neelsen-värjäys saataisiin siirrettyä Artisan Link -erikoisvärjäysautomaatille. Toisena jatkotutkimusehdotuksena voisi olla obduktionäytteiden pysyvyyden testaus Ziehl-Neelsen-värjäyksessä Artisan Link -erikoisvärjäysautomaatilla. Kolmantena voisi olla Ziehl-Neelsen-värjäyksen testaus värjäysautomaatilla sellaisella kitillä, jossa on sama taustaväri kuin käsivärjäyksessä.

## LÄHTEET

Agilent 2017a. Artisan Link Pro Special Staining System. Viitattu 19.2.2017. <http://www.agilent.com/en/products/artisan-link-for-special-stains/artisan-link-pro-special-staining-system/artisan-link-pro-special-staining-system>.

Agilent 2017b. Artisan Link for Special Stains. Viitattu 19.2.2017. <http://www.agilent.com/en/products/artisan-link-for-special-stains>.

Agilent 2017c. Grocott's Methenamine Silver Eosin Stain Kit. Viitattu 19.2.2017. [http://www.agilent.com/en/products/special-stains/special-stains-kits/grocotts-methenamine-silver-\(gms\)-eosin-stain-kit-artisan](http://www.agilent.com/en/products/special-stains/special-stains-kits/grocotts-methenamine-silver-(gms)-eosin-stain-kit-artisan) > Atlas of Special Stains.

Agilent 2017d. Technical Guide for Artisan™ Link Pro. Viitattu 19.2.2017. [http://www.agilent.com/cs/library/technicaloverviews/public/special-stains-smart-guide\\_29100.pdf](http://www.agilent.com/cs/library/technicaloverviews/public/special-stains-smart-guide_29100.pdf).

Aho, H. 2000. Sytologiset värjäykset. *Moodi*. Vol. 24, no. 4-5, 142-147.

Aira, M. & Seppä, K. 2010. Laadullinen ja määrällinen tutkimus lääketieteessä. *Suomen lääkäri-lehti – Finlands läkartidning*. Vol. 65, no. 9, 805-810.

Arstila, A., Björkqvist, S-E., Hänninen, O., Nienstedt, W. 2006. Ihmisen fysiologia ja anatomia. WSOY, Porvoo.

Bales, C. E., 2006. Laboratory Techniques. Teoksessa Koss, L. G. & Melamed, M. R. Koss' Diagnostic Sytology and its Histopathological Bases. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.

Bancroft, J. D. & Layton, C. 2013. The hemotoxylins and eosin. Teoksessa Bancroft, J. D., Layton, C. & Suvarna S. K. Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques. Churchill Livingstone/Elsevier, Oxford.

Barlett, J. H. 2013. Microorganisms. Teoksessa Bancroft, J. D., Layton, C. & Suvarna S. K. Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques. Churchill Livingstone/Elsevier, Oxford.

Clarkeburn, H. & Mustajoki, A. 2007. Tutkijan arkipäivän etiikka. Vastapaino, Tampere.

Dako 2011. Dakon Artisan Link -erikoisvärjäysautomaatin tiivistelmä.

Henkilötietolaki 22.4.1999/523.

Hirsimäki, P. 1995. Päivittänyt Laiho, M. 2015. Hyväksynyt Aho, H. 2015. Laatukäsikirjan työohje: Ziehl-Neelsen-värjäys (käsivärjäys parafiinileikkeille). Versio 3. TYKS-SAPA-liikelaitos/patologian palvelualue.

Hirsimäki, P. 1997. Päivittänyt Röyttä, A. 2015. Hyväksynyt Aho, H. 2015. Laatukäsikirjan työohje: Papanicolaoun värjäys (konevärjäys). Versio 3. TYKS-SAPA-liikelaitos/patologian palvelualue.

Hirsimäki, P. 1999a. Päivittänyt Röyttä, A. 2015. Hyväksynyt Aho, H. 2015. Laatukäsikirjan työohje: Grocott (hopea-methenamiini-käsivärjäys sytologisille ja histologisille näytteille; sienille ja *Pneumocystis jirovecii*). Sytologian perusvärjäykset. Versio 3. TYKS-SAPA-liikelaitos/patologian palvelualue.

Hirsimäki, P. 1999b. Päivittänyt Röyttä, A. 2015. Hyväksynyt Aho, H. 2015. Laatukäsikirjan työohje: Bronkoalveolaarinen lavaatio (BAL). Versio 3. TYKS-SAPA-liikelaitos/patologian palvelualue.

Hirsimäki, P. 1999c. Päivittänyt Aarikka, T. 2014. Hyväksynyt Aho, H. 2014. Laatuksikirjan työohje: Hematoksyliini-eosiinivärjäys (konevärjäys parafii-nileikkeille). Versio 2. TYKS-SAPA-liikelaitos/patologian palvelualue.

Hirsimäki, P. 2004. Päivittänyt Röyttä, A. 2015. Hyväksynyt Aho, H. 2015. Laatuksikirjan työohje: May-Grünwald-Giemsan -värjäys (konevärjäys). Versio 3. TYKS-SAPA-liikelaitos/patologian palvelualue.

Hirsjärvi, S., Remes, P., Sajavaara, P. & Sinivuori, E. 2009. Tutki ja kirjoita. 15. uud. p. edn, Tammi, Helsinki.

Kankkunen, P. & Vehviläinen-Julkunen, K. 2013. Tutkimus hoitotieteessä. SanomaPro, Helsinki.

Karttunen, T. & Vuopala, K. 2005. Taudinmääritys. Teoksessa Karttunen, T., Soini, Y. & Vuopala, K. Tautioppi. Edita, Helsinki.

Karttunen, T. 2005. Johdanto. Teoksessa Karttunen, T., Soini, Y. & Vuopala, K. Tautioppi. Edita, Helsinki.

Katila, M. 2000, Mykobakteerivärjäykset. Moodi. Vol. 24, no. 4-5, 131-134.

Kauraniemi, T. & Vuopala, S. 1994. Näytteenottotekniikka, kiinnittäminen ja lähettäminen. Teoksessa Koivuniemi, A. Kliininen sytologia. Kanditaattikustannus, Helsinki.

Kemikaalilaki 9.8.2013/599.

Keränen, T., Halkoaho, A., Länsimies, H., Pasternack, A., Pietilä, A-M. 2015. Tutkittavan asema kliinisessä tutkimuksessa ja tietoon perustuvan suostumuksen prosessi. Teoksessa Keränen, T. & Pasternack, A. Kliinisen tutkimuksen etiikka: opas tutkijoille ja eettisille toimikunnille. 1. p. edn, Duodecim, Helsinki.

Kholová, I. 2015. Sytologian diagnostinen merkitys tämän päivän patologian laboratoriossa. Moodi. Vol. 39, no. 6, 203-207.

Kirjavainen, S. 2013. Erikoisvärjäysautomaatio ennen ja nyt. Moodi. Vol. 37, no. 7, 236-238.

Klemi, P. & Stenbäck, F. 2012a. Gynekologinen irtosolututkimus eli papatutkimus. Teoksessa Mäkinen, M., Carpén, O., Kosma, V-M., Lehto, V-P., Paavonen, T., Stenbäck, F. Patologia. Duodecim, Helsinki.

Klemi, P. & Stenbäck, F. 2012b. Kliininen sytologia. Teoksessa Mäkinen, M., Carpén, O., Kosma, V-M., Lehto, V-P., Paavonen, T., Stenbäck, F. (toim.) Patologia. Duodecim, Helsinki.

Klemi, P. & Stenbäck, F. 2012c. Näytteenottotavat. Teoksessa Mäkinen, M., Carpén, O., Kosma, V-M., Lehto, V-P., Paavonen, T., Stenbäck, F. (toim.) Patologia. Duodecim, Helsinki.

Klemi, P. & Stenbäck, F. 2012d. Irtosolunäytteen lausunto. Teoksessa Mäkinen, M., Carpén, O., Kosma, V-M., Lehto, V-P., Paavonen, T., Stenbäck, F. (toim.) Patologia. Duodecim, Helsinki.

Klemi, P. & Stenbäck, F. 2012e. Kohdunkaulan levyepiteelikarsinooman ja sen esiasteiden luokitus. Teoksessa Mäkinen, M., Carpén, O., Kosma, V-M., Lehto, V-P., Paavonen, T., Stenbäck, F. (toim.) Patologia. Duodecim, Helsinki.

Koivuniemi, A. & Stenbäck, F. 1994. Yleistä sytologiaa. Teoksessa Koivuniemi, A. Kliininen sytologia. Kanditaattikustannus, Helsinki.

Koss, L. G. & Melamed M. R. 2006. Koss' Diagnostic Sytology and its Histopathological Bases. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.

Launis, V. 2007. Moniarvoinen terveys. Aeropagus, Turku.

Leino-Kilpi, H. 2009. Hoitotyöntekijä ja tutkimusetiikka. Teoksessa Leino-Kilpi H. & Välimäki M. Etiikka Hoitotyössä. WSOY, Helsinki.

Liippo, K., Soini, H. & Vasankari, T. 2010. Mykobakteerit ja norkardiat. Teoksessa Hedman, K., Heikkinen, T., Huovinen, P., Järvinen, A., Meri, S. & Vaara, M. Mikrobiologia – Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Kirja 1. Duodecim, Helsinki.

Mäkinen, M. 2012a. Näytteiden käsittely laboratoriossa. Teoksessa Mäkinen, M., Carpén, O., Kosma, V-M., Lehto, V-P., Paavonen, T., Stenbäck, F. Patologia. Duodecim, Helsinki.

Mäkinen, M. 2012b. Histopatologinen diagnostiikka. Teoksessa Mäkinen, M., Carpén, O., Kosma, V-M., Lehto, V-P., Paavonen, T., Stenbäck, F. Patologia. Duodecim, Helsinki.

Mäkinen, M. 2012c. Patologisanatominen lausunto ja diagnoosi. Teoksessa Mäkinen, M., Carpén, O., Kosma, V-M., Lehto, V-P., Paavonen, T., Stenbäck, F. Patologia. Duodecim, Helsinki.

Merck Millipore, 2010. Acetic acid-D1: SDS. Viitattu 12.3.2017. [http://www.merckmillipore.com/INTERSHOP/web/WFS/Merck-FI-Site/en\\_US/-/EUR/ProcessMSDS-Start?PlainSKU=MDA\\_CHEM-815035&Origin=PDP](http://www.merckmillipore.com/INTERSHOP/web/WFS/Merck-FI-Site/en_US/-/EUR/ProcessMSDS-Start?PlainSKU=MDA_CHEM-815035&Origin=PDP).

Merck Millipore, 2015a. Chromium (VI) okside: SDS. Viitattu 5.3.2017. [http://www.merckmillipore.com/INTERSHOP/web/WFS/Merck-FI-Site/en\\_US/-/EUR/ProcessMSDS-Start?PlainSKU=MDA\\_CHEM-100229&Origin=SERP](http://www.merckmillipore.com/INTERSHOP/web/WFS/Merck-FI-Site/en_US/-/EUR/ProcessMSDS-Start?PlainSKU=MDA_CHEM-100229&Origin=SERP).

Merck Millipore, 2015b. 5-Chloro-2-(2,4-dichlorophenoxy)phenol: SDS. Viitattu 12.3.2017. [http://www.merckmillipore.com/INTERSHOP/web/WFS/Merck-FI-Site/en\\_US/-/EUR/ProcessMSDS-Start?PlainSKU=MDA\\_CHEM-816100&Origin=PDP](http://www.merckmillipore.com/INTERSHOP/web/WFS/Merck-FI-Site/en_US/-/EUR/ProcessMSDS-Start?PlainSKU=MDA_CHEM-816100&Origin=PDP).

Merck Millipore, 2015c. Hydrochloric acid: SDS. Viitattu 12.3.2017. [http://www.merckmillipore.com/INTERSHOP/web/WFS/Merck-FI-Site/en\\_US/-/EUR/ProcessMSDS-Start?PlainSKU=MDA\\_CHEM-113136&Origin=PDP](http://www.merckmillipore.com/INTERSHOP/web/WFS/Merck-FI-Site/en_US/-/EUR/ProcessMSDS-Start?PlainSKU=MDA_CHEM-113136&Origin=PDP).

Merck Millipore, 2016a. Sodium disulfite: SDS. Viitattu 5.3.2017. [http://www.merckmillipore.com/INTERSHOP/web/WFS/Merck-FI-Site/en\\_US/-/EUR/ProcessMSDS-Start?PlainSKU=MDA\\_CHEM-106528&Origin=SERP](http://www.merckmillipore.com/INTERSHOP/web/WFS/Merck-FI-Site/en_US/-/EUR/ProcessMSDS-Start?PlainSKU=MDA_CHEM-106528&Origin=SERP).

Merck Millipore, 2016b. Silver nitrate: SDS. Viitattu 5.3.2017. [http://www.merckmillipore.com/INTERSHOP/web/WFS/Merck-FI-Site/en\\_US/-/EUR/ProcessMSDS-Start?PlainSKU=MDA\\_CHEM-101512&Origin=PDP](http://www.merckmillipore.com/INTERSHOP/web/WFS/Merck-FI-Site/en_US/-/EUR/ProcessMSDS-Start?PlainSKU=MDA_CHEM-101512&Origin=PDP).

Merck Millipore, 2016c. Xylene (isomeric mixture): SDS. Viitattu 12.3.2017. [http://www.merckmillipore.com/INTERSHOP/web/WFS/Merck-FI-Site/en\\_US/-/EUR/ProcessMSDS-Start?PlainSKU=MDA\\_CHEM-108297&Origin=SERP](http://www.merckmillipore.com/INTERSHOP/web/WFS/Merck-FI-Site/en_US/-/EUR/ProcessMSDS-Start?PlainSKU=MDA_CHEM-108297&Origin=SERP).

Naukkarinen, A. 2000. Histologiset värjäykset. Moodi. Vol. 24, no. 4-5, 153-158.

Pynninen, L. 2013. Gram ja Ziehl-Neelsen-värjäykset -bakteerien jäljillä. Moodi. Vol. 37, no. 7, 232-234.

Shelton, K. 2010. Current buzz. Automated Gram staining increases reliability and safety. MLO: Medical Laboratory Observer. Vol. 42, no.6, 44.

Stähle, S. 2013. Päivittänyt Laiho, M. 2016. Hyväksynyt Aho, H. 2016. Laatukäsikirjan työohje: Histologian laboratorion työpisteet. Versio 4. TYKS-SAPA-liikelaitos, patologia.

Stevens, A. & Lowe, J.S. 2005. Human histology. Elsevier Mosby, Philadelphia (PA).

Taskinen, E. 1994. Bronkoalveolaariset lavaationäytteet (BAL). Teoksessa Koivuniemi, A. Kliininen sytologia. Kandidaattikustannus, Helsinki.

THL, 2015a. Mykobakteerit. Viitattu 23.2.2017. <https://www.thl.fi/fi/web/infektiotaudit/taudit-ja-mikrobit/bakteeritaudit/mykobakteeri>.

THL, 2015b. Tuberkuloosi. Viitattu 23.2.2017. <https://www.thl.fi/fi/web/infektiotaudit/taudit-ja-mikrobit/bakteeritaudit/tuberkuloosi>.

Tukes, 2016. Käyttöturvallisuustiedote (KTT). Viitattu 5.3.2017. <http://www.tukes.fi/fi/Toimialat/Kemikaalit-biosidit-ja-kasvinsuojeluaineet/Kayttoturvallisuustiedote/>.

Työturvallisuuslaki 23.8.2002/738.

Vilkka, H. 2007. Tutki ja mittaa – Määrällisen tutkimuksen perusteet. Tammi, Jyväskylä.

Vilkka, H. 2015. Tutki ja kehitä. PS-kustannus, Juva.

Vuorio, E. 2015. Hyvä tieteellinen käytäntö. Teoksessa Keränen, T. & Pasternack, A. Kliinisen tutkimuksen etiikka: opas tutkijoille ja eettisille toimikunnille. 1. p. Duodecim, Helsinki.

# Rekisteritutkimuksen/laatuhankeen lupahakemus

VARSINAIS-SUOMEN  
SAIRAANHOITOPIIRI

REKISTERITUTKIMUKSEN/ LAATUHANKEEN  
LUPAHAKEMUS 1 (6)

Lomaketta käytetään potilaskohtaisten tietojen hakemiseen rekisteritutkimukseen, näytetutkimukseen tai laatuhankeeseen. Tilastoja tai potilaiden hoitoon tarvittavia tietoja haetaan lomakkeella YHT51a. Muihin VSSHP:ssa tehtäviin tutkimuksiin kuin rekisteritutkimuksiin haetaan lupa lomakkeella YHT50a.

TurkuCRC täyttää

Lupapäätösnumero  8/16 PATOLOGIA	Lupa myönnetty ajalle  2016 - 2017	Tutkimuksen projektinumero  —
---	--	-------------------------------------

<b>1. Potilaskertomustietojen käyttötarkoitus</b> <input type="checkbox"/> Tutkimus <input checked="" type="checkbox"/> Laatuhanke tai muu selvitystyö	
<b>2. Tutkimusnumero</b> T322/2016 <input checked="" type="checkbox"/> Uusi lupahakemus <input type="checkbox"/> Muutos vanhaan lupaan, jonka tutkimusnumero on /	
<b>3. Tutkimuksen/ laatuhankeen nimi ja mahdollinen lyhenne.</b> Grocott - ja Ziehl - Neelsen - värjäyksen testaus Dakon Artisan Link- erikoisvärjäysautomaatilla	
<b>4. Vastaava henkilö</b> (luvan hakija, opinnäytetoissa ohjaaja) Nimi, oppiarvo, virka, toimipaikka, yhteystiedot	
<b>5. Muu yhteyshenkilö, jos tarpeen</b> Nimi, oppiarvo, virka, toimipaikka, yhteystiedot	
<b>6. Opinnäytetyön tekijän nimi, oppiarvo, virka, toimipaikka, yhteystiedot</b> (täytetään vain opinnäytetoista) (Opinnäytetyön ohjaaja on kysymyksen 4 "vastaava henkilö")	
<b>7. Muut tutkimuksen/ hankkeen/ työn tekemiseen osallistuvat henkilöt, joilla on pääsy käytettävään potilaskertomustietoon (kohtien 4-6 henkilöiden lisäksi)</b> Nimi, oppiarvo, virka, toimipaikka, yhteystiedot	

YHT 52a VSSHP 10.2015

**VARSINAIS-SUOMEN  
SAIRAANHOITOPIIRI**REKISTERITUTKIMUKSEN/ LAATUHANKKEEN  
LUPAHAKEMUS 3 (6)☐ Muu, mikä:

c. Vuodelta/ vuosilta/ ajanjaksolta:

d. Mistä:

- ☐ Tyks Turun yliopistollinen keskussairaala
  - ☐ Tyks toimialue 1: TULES
  - ☐ Tyks toimialue 2: Sydänkeskus
  - ☐ Tyks toimialue 3: Vatsaelinkirurgian ja urologian klinikka
  - ☐ Tyks toimialue 4: Neuro
  - ☐ Tyks toimialue 5: Medisiininen
  - ☐ Tyks toimialue 6: Operatiivinen toiminta ja syöpätaudit
  - ☐ Tyks toimialue 7: Naistenklinikka
  - ☐ Tyks toimialue 8: Lasten ja nuorten klinikka
  - ☐ Tyks palvelualue 1: Asiantuntijapalvelut
  - ☐ Tyks palvelualue 2: Totek
- ☐ Muu, mikä?

e. Tutkimuskohortin kuvaus eli poimintaehdot  
(Toimenpiteistä ja diagnooseista numerot. Uusi toimenpideluokitus 1997 alkaen,  
diagnoosit: ICD-8: 1977-1986, ICD-9: 1987-1995, ICD-10: 1996 alkaen)

f. Valituista tietolähteistä poimittavat tiedot:



**VARSINAIS-SUOMEN  
SAIRAANHOITOPIIRI**

REKISTERITUTKIMUKSEN/ LAATUHANKKEEN  
LUPAHAKEMUS 5 (6)

**Vastuullisen tutkijan/laatuhankkeen luvanhakijan allekirjoitus**

Allekirjoituksellani sitoudun omasta ja tietoja käsittelevän ryhmän puolesta tietojen salassapitoon ja niiden käyttöön vain lupapäätöksen ehtojen mukaisesti. Mikäli teemme tutkimusta, sitoudumme myös siihen, että tutkimuksessa noudatetaan hyvää tutkimustapaa ja tieteellistä käytäntöä ja että tutkimuksen tulokset julkaistaan viivyttämättä riippumatta siitä, ovatko ne hakijalle tai tutkimuksen rahoittajille toivottuja tai ei. Mahdolliset epäilyt hyvän tieteellisen käytännön loukkaamisesta käsitellään noudattaen Tutkimuseettisen neuvottelukunnan ohjetta "Hyvä tieteellinen käytäntö ja sen loukkausepäilyjen käsitteleminen Suomessa" ([www.tenk.fi](http://www.tenk.fi)).

Lomake toimitetaan liitteineen ennen puolttoa TurkuCRC:hen (Tyks, rakennus 9, 2. kerros).

Nimi:

Asema/ virka:

Toimipaikka:

Osoite: R

Puh: 04

Päiväys: 1/

Allekirjoitus:

**Luovutettavia tietoja saa käyttää vain lupapäätöksen ehtojen mukaisesti. Tieteellistä tutkimusta koskevia ehtoja on soveltuvin osin noudatettava myös laatuhankkeissa.**

**Toimialueen, palvelualueen, tulosalueen tai liikelaitoksen  
TUTKIMUKSEN JA OPETUKSEN VASTUUHENKILÖN PUOLTO (koskee vain tutkimuksia)**

Päätösnumero: Turku 31/17

Pvm: 5.1.2017

Allekirjoitus

Nimenselvennys:

Erkki Eerola

**Toimialueen, palvelualueen, tulosalueen tai liikelaitoksen johtajan päätös  
tai johtajaylilääkärin päätös  
LUPA TEHDÄ REKISTERITUTKIMUSTA / LAATUHANKETTA**

Päätösnumero: 444-17007

Pvm: 5.1.2017

Allekirjoitus

Nimenselvennys:

Benita Paloheina

# Grocott-värjäyksen 1. ohjelma



TYKS SAPA Patologia  
Histologia  
Turku, Finland



## Artisan Link Procedure Report

### GMS Eosin

Grocott's Methenamine Silver (GMS) Eosin Stain

Date modified

22.2.2011

Author

Dako

Dispense - Fluid		Volume (µl)	Time	Heater	Mixes	Aspirate	Waste
1	None	0	0	Off	0	<input checked="" type="checkbox"/>	Water soluble
2	Reagent - GMS Eosin (1/8) - Sodium Chromate	1000	0	Off	0	<input type="checkbox"/>	None
3	Reagent - GMS Eosin (2/8) - Perchloric Acid	1000	630	45	3	<input type="checkbox"/>	None
		Bulk fluid	Volume	Aspirate	Waste		
		1 Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye		
		2 Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye		
		3 Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye		
		4 Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye		
4	Reagent - GMS Eosin (3/8) - Sodium Bisulfite	1000	630	Off	2	<input type="checkbox"/>	None
		Bulk fluid	Volume	Aspirate	Waste		
		1 Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Water soluble		
		2 Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Water soluble		
		3 Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Water soluble		
		4 Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Water soluble		
5	Reagent - GMS Eosin (4/8) - Silver Nitrate	1000	0	Off	0	<input type="checkbox"/>	None
6	Reagent - GMS Eosin (5/8) - Methenamine Borate	1000	630	60	3	<input type="checkbox"/>	None
7	Bulk fluid - Wash solution	2000	0	Off	2	<input type="checkbox"/>	None
		Bulk fluid	Volume	Aspirate	Waste		
		1 Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Trace metal		
		2 Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Trace metal		
		3 Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Trace metal		
		4 Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Trace metal		
8	Reagent - GMS Eosin (6/8) - Gold Chloride	1000	630	Off	1	<input type="checkbox"/>	None
		Bulk fluid	Volume	Aspirate	Waste		
		1 Wash solution	2000	<input checked="" type="checkbox"/>	Trace metal		
		2 Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Trace metal		
		3 Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Trace metal		
9	Reagent - GMS Eosin (7/8) - Sodium Thiosulfate	1000	630	Off	2	<input type="checkbox"/>	None
		Bulk fluid	Volume	Aspirate	Waste		
		1 Wash solution	2000	<input checked="" type="checkbox"/>	Water soluble		
		2 Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Water soluble		
		3 Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Water soluble		
10	Reagent - GMS Eosin (8/8) - Eosin	1000	60	Off	2	<input type="checkbox"/>	None
		Bulk fluid	Volume	Aspirate	Waste		
		1 Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye		
		2 Wash solution	2000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye		
		3 Wash solution	2000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye		
		4 Wash solution	2000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye		
		5 Wash solution	2000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye		
		6 Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye		

Printed by: Patologia, TYKS  
Printed on: 15.3.2017 14:51:47

Version: 3.1.0.987  
Page 1

# Grocott-värjäyksen 2. ohjelma



TYKS SAPA Patologia  
Histologia  
Turku, Finland



## Artisan Link Procedure Report

### GMS Eosin eosin +90s

Grocott's Methenamine Silver (GMS) Eosin Stain

Date modified

21.2.2017 13:05:22

Author

Patologia, TYKS

Dispense - Fluid		Volume (µl)	Time	Heater	Mixes	Aspirate	Waste
1	None	0	0	Off	0	<input checked="" type="checkbox"/>	Water soluble
2	Reagent - GMS Eosin (1/8) - Sodium Chromate	1000	0	Off	0	<input type="checkbox"/>	None
3	Reagent - GMS Eosin (2/8) - Perchloric Acid	1000	630	45	3	<input type="checkbox"/>	None
		<b>Bulk fluid</b>	<b>Volume</b>	<b>Aspirate</b>	<b>Waste</b>		
		1 Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye		
		2 Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye		
		3 Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye		
		4 Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye		
4	Reagent - GMS Eosin (3/8) - Sodium Bisulfite	1000	630	Off	2	<input type="checkbox"/>	None
		<b>Bulk fluid</b>	<b>Volume</b>	<b>Aspirate</b>	<b>Waste</b>		
		1 Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Water soluble		
		2 Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Water soluble		
		3 Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Water soluble		
		4 Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Water soluble		
5	Reagent - GMS Eosin (4/8) - Silver Nitrate	1000	0	Off	0	<input type="checkbox"/>	None
6	Reagent - GMS Eosin (5/8) - Methenamine Borate	1000	630	60	3	<input type="checkbox"/>	None
7	Bulk fluid - Wash solution	2000	0	Off	2	<input type="checkbox"/>	None
		<b>Bulk fluid</b>	<b>Volume</b>	<b>Aspirate</b>	<b>Waste</b>		
		1 Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Trace metal		
		2 Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Trace metal		
		3 Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Trace metal		
		4 Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Trace metal		
8	Reagent - GMS Eosin (6/8) - Gold Chloride	1000	630	Off	1	<input type="checkbox"/>	None
		<b>Bulk fluid</b>	<b>Volume</b>	<b>Aspirate</b>	<b>Waste</b>		
		1 Wash solution	2000	<input checked="" type="checkbox"/>	Trace metal		
		2 Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Trace metal		
		3 Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Trace metal		
9	Reagent - GMS Eosin (7/8) - Sodium Thiosulfate	1000	630	Off	2	<input type="checkbox"/>	None
		<b>Bulk fluid</b>	<b>Volume</b>	<b>Aspirate</b>	<b>Waste</b>		
		1 Wash solution	2000	<input checked="" type="checkbox"/>	Water soluble		
		2 Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Water soluble		
		3 Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Water soluble		
10	Reagent - GMS Eosin (8/8) - Eosin	1000	90	Off	2	<input type="checkbox"/>	None
		<b>Bulk fluid</b>	<b>Volume</b>	<b>Aspirate</b>	<b>Waste</b>		
		1 Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye		
		2 Wash solution	2000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye		
		3 Wash solution	2000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye		
		4 Wash solution	2000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye		
		5 Wash solution	2000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye		
		6 Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye		

Printed by: Patologia, TYKS  
Printed on: 15.3.2017 14:52:54

Version: 3.1.0.987  
Page 1

# Grocott-värjäyksen 3. ohjelma



TYKS SAPA Patologia  
Histologia  
Turku, Finland



## Artisan Link Procedure Report

### GMS Eosin eosin +120s

Grocott's Methenamine Silver (GMS) Eosin Stain

Date modified

21.2.2017 13:04:04

Author

Patologia, TYKS

Dispense - Fluid		Volume (ul)	Time	Heater	Mixes	Aspirate	Waste
1	None	0	0	Off	0	<input checked="" type="checkbox"/>	Water soluble
2	Reagent - GMS Eosin (1/8) - Sodium Chromate	1000	0	Off	0	<input type="checkbox"/>	None
3	Reagent - GMS Eosin (2/8) - Perchloric Acid	1000	630	45	3	<input type="checkbox"/>	None
		<b>Bulk fluid</b>	<b>Volume</b>	<b>Aspirate</b>	<b>Waste</b>		
		1 Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye		
		2 Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye		
		3 Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye		
		4 Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye		
4	Reagent - GMS Eosin (3/8) - Sodium Bisulfite	1000	630	Off	2	<input type="checkbox"/>	None
		<b>Bulk fluid</b>	<b>Volume</b>	<b>Aspirate</b>	<b>Waste</b>		
		1 Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Water soluble		
		2 Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Water soluble		
		3 Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Water soluble		
		4 Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Water soluble		
5	Reagent - GMS Eosin (4/8) - Silver Nitrate	1000	0	Off	0	<input type="checkbox"/>	None
6	Reagent - GMS Eosin (5/8) - Methenamine Borate	1000	630	60	3	<input type="checkbox"/>	None
7	Bulk fluid - Wash solution	2000	0	Off	2	<input type="checkbox"/>	None
		<b>Bulk fluid</b>	<b>Volume</b>	<b>Aspirate</b>	<b>Waste</b>		
		1 Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Trace metal		
		2 Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Trace metal		
		3 Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Trace metal		
		4 Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Trace metal		
8	Reagent - GMS Eosin (6/8) - Gold Chloride	1000	630	Off	1	<input type="checkbox"/>	None
		<b>Bulk fluid</b>	<b>Volume</b>	<b>Aspirate</b>	<b>Waste</b>		
		1 Wash solution	2000	<input checked="" type="checkbox"/>	Trace metal		
		2 Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Trace metal		
		3 Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Trace metal		
9	Reagent - GMS Eosin (7/8) - Sodium Thiosulfate	1000	630	Off	2	<input type="checkbox"/>	None
		<b>Bulk fluid</b>	<b>Volume</b>	<b>Aspirate</b>	<b>Waste</b>		
		1 Wash solution	2000	<input checked="" type="checkbox"/>	Water soluble		
		2 Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Water soluble		
		3 Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Water soluble		
10	Reagent - GMS Eosin (8/8) - Eosin	1000	120	Off	2	<input type="checkbox"/>	None
		<b>Bulk fluid</b>	<b>Volume</b>	<b>Aspirate</b>	<b>Waste</b>		
		1 Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye		
		2 Wash solution	2000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye		
		3 Wash solution	2000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye		
		4 Wash solution	2000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye		
		5 Wash solution	2000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye		
		6 Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye		

# Ziehl-Neelsen-värjäyksen 1. ohjelma



TYKS SAPA Patologia  
Histologia  
Turku, Finland



## Artisan Link Procedure Report



AFB

Stains Acid-Fast Bacteria

Date modified

13.4.2012 8:04:41

Author

Dako

Dispense - Fluid		Volume (ul)	Time	Heater	Mixes	Aspirate	Waste
1	None	0	0	Off	0	<input checked="" type="checkbox"/>	Water soluble
2	Reagent - AFB (1/3) - Carbol Fuchsin	1000	600	37	1	<input type="checkbox"/>	None
		Bulk fluid	Volume	Aspirate	Waste		
1	Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye			
2	Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye			
3	Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye			
4	Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye			
5	Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye			
6	Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye			
3	Reagent - AFB (2/3) - Acid Alcohol	1000	60	Off	3	<input type="checkbox"/>	None
		Bulk fluid	Volume	Aspirate	Waste		
1	Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye			
2	Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye			
3	Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye			
4	Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye			
5	Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye			
6	Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye			
4	Bulk fluid - Wash solution	2000	0	Off	0	<input type="checkbox"/>	None
5	Reagent - AFB (3/3) - Methylene Blue	500	0	Off	4	<input type="checkbox"/>	None
		Bulk fluid	Volume	Aspirate	Waste		
1	Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye			
2	Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye			
3	Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye			
4	Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye			
5	Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye			

## Ziehl-Neelsen-värjäyksen 2. ohjelma



TYKS SAPA Patologia  
Histologia  
Turku, Finland



### Artisan Link Procedure Report



#### AFB blue -

Stains Acid-Fast Bacteria

Date modified

21.2.2017 12:45:26

Author

Patologia, TYKS

Dispense - Fluid		Volume (ul)	Time	Heater	Mixes	Aspirate	Waste
1	None	0	0	Off	0	<input checked="" type="checkbox"/>	Water soluble
2	Reagent - AFB (1/3) - Carbolfuchsin	1000	600	37	1	<input type="checkbox"/>	None
		<b>Bulk fluid</b>		<b>Volume</b>	<b>Aspirate</b>	<b>Waste</b>	
1	Wash solution			3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye	
2	Wash solution			3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye	
3	Wash solution			3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye	
4	Wash solution			3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye	
5	Wash solution			3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye	
6	Wash solution			3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye	
3	Reagent - AFB (2/3) - Acid Alcohol	1000	60	Off	3	<input type="checkbox"/>	None
		<b>Bulk fluid</b>		<b>Volume</b>	<b>Aspirate</b>	<b>Waste</b>	
1	Wash solution			3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye	
2	Wash solution			3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye	
3	Wash solution			3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye	
4	Wash solution			3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye	
5	Wash solution			3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye	
6	Wash solution			3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye	
4	Bulk fluid - Wash solution	2000	0	Off	0	<input type="checkbox"/>	None
5	Reagent - AFB (3/3) - Methylene Blue	500	0	Off	4	<input type="checkbox"/>	None
		<b>Bulk fluid</b>		<b>Volume</b>	<b>Aspirate</b>	<b>Waste</b>	
1	Wash solution			3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye	
2	Wash solution			3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye	
3	Wash solution			3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye	
4	Wash solution			3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye	
5	Wash solution			3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye	
6	Wash solution			3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye	

# Ziehl-Neelsen-värjäyksen 3. ohjelma



TYKS SAPA Patologia  
Histologia  
Turku, Finland



## Artisan Link Procedure Report



### AFB red+

Stains Acid-Fast Bacteria

Date modified  
6.3.2017 8:58:09

Author  
Patologia, TYKS

Dispense - Fluid		Volume (µl)	Time	Heater	Mixes	Aspirate	Waste
1	None	0	0	Off	0	<input checked="" type="checkbox"/>	Water soluble
2	Reagent - AFB (1/3) - Carbolfuchsin	1000	600	37	1	<input type="checkbox"/>	None
		Bulk fluid	Volume	Aspirate	Waste		
1	Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye			
2	Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye			
3	Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye			
4	Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye			
5	Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye			
6	Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye			
3	Reagent - AFB (2/3) - Acid Alcohol	1000	0	Off	3	<input type="checkbox"/>	None
		Bulk fluid	Volume	Aspirate	Waste		
1	Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye			
2	Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye			
3	Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye			
4	Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye			
5	Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye			
6	Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye			
4	Bulk fluid - Wash solution	2000	0	Off	0	<input type="checkbox"/>	None
5	Reagent - AFB (3/3) - Methylene Blue	500	0	Off	4	<input type="checkbox"/>	None
		Bulk fluid	Volume	Aspirate	Waste		
1	Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye			
2	Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye			
3	Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye			
4	Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye			
5	Wash solution	3000	<input checked="" type="checkbox"/>	Combined dye			